



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“EVALUACIÓN DE LOS MARCADORES TUMORALES  
ANTÍGENO CARCINOEMBRIONARIO Y ALFA FETOPROTEÍNA  
POR EL MÉTODO ELISA EN LOS TRABAJADORES DE LAS  
GASOLINERAS DE LA CIUDAD DE AMBATO”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para obtener el cargo académico de

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: KATHERINE JHOANNA SHAGÑAY CANDO**

**DIRECTORA: DRA. SANDRA NOEMÍ ESCOBAR ARRIETA, M. SC**

Riobamba-Ecuador

2020

© 2020, Katherine Jhoanna Shagñay Cando

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento incluyendo la cita bibliográfica del documento siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, Katherine Jhoanna Shagñay Cando, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 26 de febrero 2020



**Katherine Jhoanna Shagñay Cando**

**060511959-3**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de titulación: Tipo: Proyecto de investigación, “EVALUACIÓN DE LOS MARCADORES TUMORALES ANTÍGENO CARCINOEMBRIÓNARIO Y ALFA FETOPROTEÍNA POR EL MÉTODO ELISA EN LOS TRABAJADORES DE LAS GASOLINERAS DE LA CIUDAD DE AMBATO”, realizado por la señorita: **KATHERINE JHOANNA SHAGÑAY CANDO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. Norma Cecilia Toaquiza Aguagallo <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	 _____	26-02-2020
Dra. Sandra Noemí Escobar Arrieta <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	 _____	26-02-2020
Dra. Ana Karina Albuja Landi <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	 _____	26-02-2020

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de titulación a Dios y a la Virgen por darme salud, sabiduría y fortaleza para no desmayar en los momentos de dificultad, pudiendo de esta manera alcanzar y cumplir esta gran meta. A mis padres Wilson y Luz María por su cariño, paciencia y apoyo incondicional en cada momento de mi vida y en las decisiones tomadas para poder lograr mis sueños. A mis hermanos Lorena, Javier y Jhosue por demostrarme todos los días su amor y confianza brindándome palabras de aliento que me impulsaron a ser mejor persona cada día.

Katherine

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios y a la Virgen por acompañarme en mi vida y en cada decisión tomada para poder alcanzar este sueño tanpreciado, por guiarme e iluminarme en los momentos de dificultad dándome fortaleza para poder llegar a la meta deseada.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia por brindarme los conocimientos que me ayudaron a formarme como profesional con ética y vocación de servir y ayudar a los demás.

De forma especial agradezco a la Dra. Sandra Escobar, tutora del trabajo de investigación, por todo su apoyo, comprensión y paciencia, que además de ser una excelente docente ha demostrado ser una gran persona, también agradezco a la Dra. Anita Albuja, colaboradora, por brindarme su tiempo y consejos que han sido de gran relevancia para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A mis padres, mis más sinceros agradecimientos por todo su esfuerzo y sacrificio realizado para poder formarme como profesional, a mis hermanos por su preocupación y apoyo en cada momento, a mi cuñado y a toda mi familia por sus buenos consejos.

Katherine

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1

## CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	5
1.1. Antecedentes.....	5
1.2. Cáncer. Definición .....	6
1.2.1. Clasificación .....	6
1.3. Alteraciones oncofetales y embrionarias .....	7
1.3.1. Causa de las alteraciones .....	7
1.3.2. Consecuencia de las malformaciones genéticas por agentes químicos .....	8
1.3. Marcadores Tumorales .....	9
1.4.1. Marcador tumoral ideal.....	9
1.4.2. Clasificación de los marcadores tumorales.....	10
1.4.3. Principales marcadores tumorales .....	11
1.4. Antígeno carcinoembrionario .....	11
1.5.1. Generalidades .....	11
1.5.2. Valores de referencia.....	12
1.5. Alfa fetoproteína .....	12
1.6.1. Generalidades .....	12
1.6.2. Valores de referencia.....	12
1.6. Método ELISA .....	13
1.7.1. Clasificación de los ELISAs.....	14
1.8. Gasolina y sus componentes.....	16
1.8.1. Benceno .....	17
1.8.2. Tolueno .....	17
1.8.3. Xilenos .....	17
1.9. Diésel .....	18

## CAPÍTULO II

<b>2.</b>	<b>METODOLÓGICO</b> .....	19
<b>2.1</b>	<b>Tipo de investigación</b> .....	19
<b>2.2.</b>	<b>Diseño de la investigación</b> .....	19
<b>2.3.</b>	<b>Área de estudio</b> .....	19
<b>2.4.</b>	<b>Población de estudio</b> .....	20
<b>2.5.</b>	<b>Tamaño de la muestra</b> .....	20
<b>2.6.</b>	<b>Método de muestreo</b> .....	20
<b>2.7.</b>	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	20
<b>2.7.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	20
<b>2.7.2.</b>	<i>Equipos</i> .....	21
<b>2.7.3.</b>	<i>Reactivos</i> .....	21
<b>2.8.</b>	<b>Socialización del tema de trabajo de titulación</b> .....	21
<b>2.9.</b>	<b>Recolección de datos</b> .....	22
<b>2.10.</b>	<b>Análisis de las muestras</b> .....	22
<b>2.10.1.</b>	<i>Determinación del Antígeno carcinoembrionario</i> .....	22
<b>2.10.2.</b>	<i>Determinación de Alfa fetoproteína</i> .....	23
<b>2.11.</b>	<i>Análisis estadístico</i> .....	24

## CAPÍTULO III

<b>3.</b>	<b>MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> ..	25
<b>3.1.</b>	<b>Resultado de las encuestas</b> .....	25
<b>3.2.</b>	<b>Resultado de los marcadores tumorales</b> .....	38
<b>3.2.1.</b>	<i>Resultados del Antígeno carcinoembrionario</i> .....	38
<b>3.2.2.</b>	<i>Resultados del Alfa fetoproteína</i> .....	40
<b>3.3.</b>	<b>Análisis estadístico</b> .....	42
<b>3.4.</b>	<b>Elaboración del tríptico para la promoción de la salud</b> .....	45
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	46
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	48

## GLOSARIO

## BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Características del marcador tumoral ideal .....	10
<b>Tabla 2-1:</b>	Clasificación de los marcadores tumorales más utilizados.....	10
<b>Tabla 1-3:</b>	Edad de los trabajadores de las gasolineras .....	27
<b>Tabla 2-3:</b>	Sexo de los trabajadores de las gasolineras .....	28
<b>Tabla 3-3:</b>	Pregunta N° 1. ¿Cuál es el cargo que desempeña en la empresa? .....	27
<b>Tabla 4-3:</b>	Pregunta N° 2. ¿Qué tiempo lleva trabajando en esta empresa?.....	30
<b>Tabla 5-3:</b>	Pregunta N° 3. ¿Conoce usted a cerca de las enfermedades crónicas como Diabetes Mellitus, Hipertensión arterial, Insuficiencia renal? .....	29
<b>Tabla 6-3:</b>	Pregunta N° 4. Realiza usted actividad física.....	30
<b>Tabla 7-3:</b>	Pregunta N° 5. ¿Desayuna usted diariamente a la misma hora?.....	31
<b>Tabla 8-3:</b>	Pregunta N° 6. ¿Qué tipo alimentos consume frecuentemente? .....	32
<b>Tabla 9-3:</b>	Pregunta N° 7. ¿Qué bebidas consume frecuentemente? .....	33
<b>Tabla 10-3:</b>	Pregunta N° 8. ¿Durante el día cuantas veces ingiere alimentos? .....	34
<b>Tabla 11-3:</b>	Pregunta N° 9. ¿Usted fuma? .....	35
<b>Tabla 12-3:</b>	Pregunta N° 10. ¿Ha sentido alguna de las siguientes molestias en su salud?.....	36
<b>Tabla 13-3:</b>	Pregunta N° 11. Con que frecuencia se realiza un control médico .....	39
<b>Tabla 14-3:</b>	Resultado de los análisis del CEA en los trabajadores de las gasolineras. ....	38
<b>Tabla 15-3:</b>	Resultado de los análisis del CEA del 10% de personas que no trabajan en contacto directo con la gasolina .....	39
<b>Tabla 16-3:</b>	Resultado de los análisis del AFP en los trabajadores de las gasolineras. ....	40
<b>Tabla 17-3:</b>	Resultado de los análisis del AFP en el 10% de personas que no trabajan en contacto directo con la gasolina.....	41
<b>Tabla 18-3:</b>	Test F para saber si las varianzas son iguales o desiguales con el Antígeno carcinoembrionario.....	42
<b>Tabla 19-3:</b>	Comparación de los resultados del Antígeno carcinoembrionario de los trabajadores de las gasolineras con el 10% de los trabajadores que no se relacionan de forma directa con los vapores de la gasolina.....	42
<b>Tabla 20-3:</b>	Test F para saber si las varianzas son iguales o desiguales con el Alfa fetoproteína .....	43
<b>Tabla 21-3:</b>	Comparación de los resultados del marcador tumoral Alfa fetoproteína de los trabajadores de las gasolineras con el 10% de los trabajadores que no se relacionan de forma directa con los vapores de la gasolina.....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b>	Estructura de un anticuerpo .....	13
<b>Figura 2-1.</b>	Esquema del ensayo ELISA directo.....	14
<b>Figura 3-1.</b>	Esquema del ensayo ELISA indirecto .....	15
<b>Figura 4-1.</b>	Esquema del ensayo ELISA sándwich doble anticuerpo .....	15
<b>Figura 5-1.</b>	Esquema del ensayo ELISA sándwich doble antígeno .....	16

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Edad de los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato .....	25
<b>Gráfico 2-3:</b>	Sexo de los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de A .....	26
<b>Gráfico 3-3:</b>	Cargo que ocupan los trabajadores en las gasolineras .....	27
<b>Gráfico 4-3:</b>	Tiempo de trabajo de las personas en las gasolineras.....	28
<b>Gráfico 5-3:</b>	Conocimiento de las enfermedades crónicas por parte de los trabajadores .....	29
<b>Gráfico 6-3:</b>	Porcentaje de las personas que realizan actividad física.....	30
<b>Gráfico 7-3:</b>	Personas que desayunas a la misma hora .....	31
<b>Gráfico 8-3:</b>	Alimentos que consumen los trabajadores de las gasolineras .....	32
<b>Gráfico 9-3:</b>	Bebidas que consumen los trabajadores de las gasolineras .....	33
<b>Gráfico 10-3:</b>	Frecuencia de las veces de alimentación de los trabajadores .....	34
<b>Gráfico 11-3:</b>	Hábito de fumar de los trabajadores de las gasolineras .....	35
<b>Gráfico 12-3:</b>	Molestias de salud que presentan los trabajadores de las gasolineras .....	36
<b>Gráfico 13-3:</b>	Frecuencia con la que se realizan controles médicos los trabajadores de las gasolineras.....	37
<b>Gráfico 14-3:</b>	Resultado de los análisis de CEA en los trabajadores de las gasolineras .....	38
<b>Gráfico 15-3:</b>	Resultado de los análisis de CEA del 10% de personas .....	39
<b>Gráfico 16-3:</b>	Resultado de los análisis de AFP de los trabajadores de las gasolineras .....	40
<b>Gráfico 17-3:</b>	Resultado de los análisis de AFP del 10% de personas .....	41

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** FICHA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS ELISA DE ANTÍGENO CARCINOEMBRIONARIO
- ANEXO B:** FICHA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS ELISA DE ALFA FETOPROTEÍNA
- ANEXO C:** CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ANTÍGENO CARCINOEMBRIONARIO DEL EQUIPO LECTOR DE PLACAS ELISA GEAR (LINEAR)
- ANEXO D:** CURVA DE CALIBRACIÓN DE ALFA FETOPROTEÍNA DEL EQUIPO LECTOR DE PLACAS ELISA GEAR (LINEAR)
- ANEXO E:** RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DEL MARCADOR TUMORAL ANTÍGENO CARCINOEMBRIONARIO
- ANEXO F:** RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DEL MARCADOR TUMORAL ALFA FETOPROTEÍNA
- ANEXO G:** OFICIO DE AUTORIZACIÓN DIRIGIDO A LOS GERENTES DE LAS GASOLINERAS
- ANEXO H:** SOCIALIZACIÓN, ENTREGA Y RECEPCIÓN DE ENCUESTAS AL GRUPO DE ESTUDIO FORMADO POR LOS TRABAJADORES DE LAS GASOLINERAS
- ANEXOS I:** ENCUESTA REALIZADA
- ANEXO J:** EXTRACCIÓN DE MUESTRAS A LOS TRABAJADORES DE LAS DIFERENTES GASOLINERAS
- ANEXO K:** CHARLA SOBRE LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES Y ENTREGA DE TRÍPTICOS AL PERSONAL DE LAS GASOLINERAS
- ANEXO L:** PROCESAMIENTOS DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS
- ANEXO M:** RESULTADOS OBSERVADOS EN LA MICROPLACA DEL ANTÍGENO CARCINOEMBRIONARIO
- ANEXO N:** RESULTADOS OBSERVADOS EN LA MICROPLACA DEL ALFA FETOPROTEÍNA

## RESUMEN

El objetivo del trabajo de titulación fue determinar la presencia de los marcadores tumorales Antígeno carcinoembrionario y Alfa fetoproteína por el método ELISA en los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato. El estudio se realizó en una muestra de 90 personas divididas en: 82 trabajadores entre despachadores de combustible y personal administrativo y el 10% (8 personas) que no trabajan en contacto directo con los hidrocarburos (Guardias de seguridad, personal de limpieza, y de Minimarkets), a quienes se les realizó la venopunción para obtener sueros. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; para la cuantificación de los marcadores, se utilizó el ensayo inmunoenzimático ELISA tipo sándwich y competitivo. El análisis estadístico de las encuestas y resultados se tabularon en la hoja de cálculo Excel y para realizar la comparación de las poblaciones se utilizó la prueba F (Fisher) para determinar si las varianzas eran iguales o desiguales y se aplicó el modelo t de Student para dos poblaciones suponiendo varianzas iguales. Las encuestas evidenciaron que los pacientes mantienen una vida activa pero poco saludable, debido a una mala nutrición, basada en carbohidratos. El 9% (7 personas), presenta valores elevados para el Antígeno carcinoembrionario y 5% (4 personas) para el Alfa fetoproteína. Al realizar la comparación de las poblaciones (expuestos y no expuesto), no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas porque las patológicas se presentan por el tiempo y la cantidad de hidrocarburos a los que se expusieron, también se les capacitó a través de una charla proporcionando información sobre una alimentación adecuada, actividad física, medidas de protección, acciones que sirven para mejorar el estado de salud. Se recomienda de forma prioritaria realizarse controles médicos, por la exposición ocupacional al benceno, tolueno y xileno, componentes fundamentales de la gasolina y causantes de enfermedades neoplásicas porque es mejor y fácil tratar la enfermedad en sus estadios iniciales.

**Palabras clave:** <MÉTODO ELISA-INMUNOENSAYO>, <MARCADOR TUMORAL>, <ANTÍGENO CARCINOEMBRIONARIO>, <ALFA FETOPROTEÍNA>, <HIDROCARBUROS >



## ABSTRACT

The objective of this research work was to determine the presence of tumour markers Carcinoembrionary antigen and Alpha-fetoprotein by the Elisa method in the workers of the gas stations in the city of Ambato. The study was conducted on a sample of 90 people divided into 82 workers including fuel dispatchers and administrative staff and 10% (8 people) who do not work in direct contact with hydrocarbons (Security guards, cleaning staff, and personal sales of the Minimarkets), to whom the venipuncture was performed to obtain serum. The samples were processed in the Clinical Analysis Laboratory of the Polytechnic School of Chimborazo; For the quantification of tumour markers, the sandwich and competitive ELISA immunoenzymatic assay was used. The statistical analysis of the surveys and the results of the samples were tabulated in the Excel spreadsheet and the F (Fisher) test was used to compare the results of the independent populations to determine if the variances were equal or unequal and the student model t was applied by two populations assuming equal variances. Surveys showed that patients maintain an active but unhealthy life, by leading to poor nutrition, based mainly on carbohydrate intake. 9% of the population (7 people), has high values for the carcinoembrionary antigen and 5% (4 people) for the alpha-fetoprotein. When comparing the values obtained from the populations (exposed and unexposed) for tumour markers, a statistically significant difference was not obtained, because the pathological alterations are presented according to the time and the number of hydrocarbons at which They are exposed, the population was also trained through a talk where information was provided on adequate food, physical activity, protective measures, actions that together serve to improve the state of health. It is recommended as a priority to carry out regular medical checks, due to occupational exposure to benzene, toluene, and xylene, which are fundamental components of gasoline and cause of neoplastic diseases, it is better and easier to treat the disease in its stages initials.

*Keywords:* <ELISA-IMMUNOENSAY METHOD>, <TUMOR MARKER>, <CARCINOEMBRIONARY ANTIGEN>, <PHETOPROTEIN ALPHA>, <HYDROCARBONS>



## INTRODUCCIÓN

Los contaminantes tóxicos alteran la salud de las personas, interrumpiendo el normal funcionamiento de los sistemas, entre los principales sistemas afectados tenemos el respiratorio, que actúa como un sistema diana al permitir el desarrollo del cáncer de garganta y el cáncer de pulmón además es la puerta de ingreso para las sustancias tóxicas que entran en contacto con la sangre y que luego son transportadas por todo el organismo, así la inhalación de concentraciones altas de gasolina produce irritación de los pulmones (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2015, 22-24).

Otro sistema afectado es el sistema digestivo porque es un procesador principal de los materiales extraños que ingresan en el cuerpo, este sistema está expuesto continuamente a sustancias tóxicas, de esta manera la ingesta de hidrocarburos irrita el revestimiento del estómago, del hígado, del páncreas y de los intestinos. (Roa y Meruane, 2012, p.4-6)

El sistema reproductor también se puede alterar al entrar en contacto con los hidrocarburos policíclicos, pudiendo estos compuestos interferir con el proceso reproductor en diversos puntos, ocasionando en el hombre el bloqueo de la producción de esperma y en el sistema femenino deteniendo el desarrollo de gametos (Roa y Meruane, 2012, p.6-8), además causa alteraciones genéticas que afectan la reproducción celular produciendo una proliferación incontrolada de células que da como resultado la presencia de cáncer de ovario y testículo; el cáncer presenta relación muy estrecha con los genes, tanto por los cambios epigenéticos que son alteraciones en la expresión de ciertos genes como por cambios genéticos que modifican la división celular y ocasionan una proliferación excesiva o reducción a través de la muerte celular. (Quintero et al., 2009, p. 34-37)

La gasolina es una mezcla compleja de compuestos, principalmente parafinas, olefinas, naftenos, incluye benceno, tolueno, xileno, los trabajadores con el cargo de despachadores están expuestos durante su jornada laboral a los vapores de gasolina súper, gasolina extra y diésel (Ordóñez, 2013, p.7-9). Muchos de los efectos nocivos observados después de la exposición a la gasolina se deben a los productos químicos individuales en la mezcla, tales como benceno y sus derivados. (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2015, 25-26)

La exposición al benceno se ha asociado con una variedad de patologías pudiendo generar enfermedades agudas y a largo plazo como el cáncer y la anemia aplásica (Organización Mundial de la Salud, 2019), este compuesto es considerado como una sustancia mutágena y carcinógena porque produce mutaciones o alteraciones en el material genético, procesos que constituyen el hecho

principal entre diversos efectos adversos en la salud, las mutaciones que ocurren en el material genético de una célula pasan a las células hijas, dichas mutaciones se acumulan y cuando estas alteraciones comprometen genes que actúan regulando la proliferación celular como los genes supresores tumorales y proto-oncogenes que son genes normales responsables de la codificación de proteínas nucleares, citoplasmáticas y de membrana, que intervienen en el mantenimiento del equilibrio de las funciones celulares, se favorece la formación de células cancerosas, se cree que la mayoría de tipos de cáncer surgen de un daño provocado sobre un gen que controla la división celular. (Quintero et al., 2009, p. 38-39)

### **Justificación**

El presente proyecto de investigación tiene como objetivo evaluar si los trabajadores de las estaciones de servicio de la ciudad de Ambato, presentan algún tipo de alteración patológica oncológica relacionado con las actividades que desempeñan en su ámbito laboral, se debe tomar en consideración que las personas que trabajan en las gasolineras se encuentran expuesto a los hidrocarburos que forman parte de la composición química de la gasolina como son: tolueno, xileno y en especial el benceno, la exposición a este hidrocarburo aromático se ha convertido en una gran preocupación de Salud Pública por los efectos perjudiciales para la salud (Organización Mundial de la Salud, 2010, p.1-2), técnicamente esta investigación se basa en evaluar la presencia de los marcadores tumorales Antígeno carcinoembrionario (CEA) y Alfa fetoproteína (AFP) a través del método ELISA, procedimiento que es considerado como un método cualitativo al detectar la presencia del analito y cuantitativo al determinar la concentración de este, además, presenta alta sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y es adaptable a cualquiera laboratorio (Fernández, 2007, p.8), permitiendo de esta manera que los resultados obtenidos sean confiables para poder conseguir un valor real que ayudará a estimar las enfermedades que estos compuestos producen en el ser humano porque no se cuenta con datos sobre estudios realizados en la ciudad de Ambato.

Los valores altos de CEA han demostrado que se asocian en gran escala a tumores malignos, incluidos los de colon-recto, mama, páncreas y pulmón, mientras que los valores altos de AFP se relacionan con hepatocarcinomas y enfermedades hepáticas como cirrosis.

Los resultados de los marcadores tumorales se obtuvieron en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, lugar que proporcionó los materiales, equipos y reactivos necesarios para poder desarrollar este trabajo de titulación, además el proyecto forma parte del Grupo de investigación LEISHPAREC (Leishmaniosis y otras parasitosis en el Ecuador), grupo que se encuentra conformado por

Docentes con amplios conocimientos dentro del área clínica, la misma que forma parte de nuestra formación como Bioquímicos Farmacéuticos, y a través de esta investigación se pondrán de manifiesto los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos en las aulas de clase durante los años de aprendizaje. El Grupo LEISHPAREC financió económicamente en un 50% la investigación, al contribuir con los kits de los marcadores tumorales hacer analizados y el otro 50% se encuentra solventado por la tesista.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar los marcadores tumorales Antígeno carcinoembrionario y Alfa fetoproteína por el método ELISA en los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato.

### **Objetivos Específicos**

- Estimar los antecedentes de salud de los pacientes a través de la realización de una encuesta al personal de las gasolineras de la ciudad de Ambato.
- Analizar los sueros sanguíneos para la determinación de marcadores tumorales Antígeno carcinoembrionario y Alfa fetoproteína en los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato.
- Comparar los valores obtenidos de los pacientes con los valores del 10% de los trabajadores que no se relacionan de forma directa con los vapores de la gasolina.
- Capacitar a la población en estudio a través de una charla y la elaboración de un tríptico sobre la promoción de la salud.

## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Antecedentes

En la India, la Universidad de Kelaniya, por medio de la Facultad de Medicina realizó un estudio sobre la exposición al benceno, tolueno y xileno (BTX) en 29 asistentes de gasolineras y en 16 trabajadores de oficina, el objetivo de este estudio fue evaluar el nivel de exposición a los hidrocarburos, para los cual se recogieron muestras de aire exhalado antes y después del turno y se analizaron en un sistema de espectrometría de masas por cromatografía de gases, también la orina se recogió en los mismos puntos de tiempo y se analizó para un metabolito de benceno, usando cromatografía líquida, finalmente la exposición ambiental se midió por muestreo de aire personal y se analizó por cromatografía de gases, el 28% de las exposiciones medidas excedieron el valor límite umbral establecido por la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales para un promedio ponderado de 8 h que es de 1,6 mg/ m<sup>3</sup> para el benceno, obteniéndose como resultado que los empleados de las estaciones de servicio tienen una exposición elevada a la inhalación de BTX en comparación con los trabajadores de oficina, una reducción de las largas horas de trabajo, sería lo ideal para recuperarse de los periodos prolongados de la exposición a estos hidrocarburos. (Scheepers et al., 2019, p. 2-11)

A nivel de Latinoamérica, en Venezuela durante el año 2011, se desarrolló un estudio sobre la exposición de benceno, investigación que era de tipo descriptiva, correlacional, con diseño no experimental, de campo y transversal, en donde se analizaron muestras de 2 grupos de trabajadores expuestos a benceno: 30 trabajadores de una planta de empaques, 18 trabajadores de estaciones de servicio y un grupo control de 22 individuos, la medición del benceno se realizó en muestras de orina recolectadas al final de la jornada laboral, y fueron analizadas por cromatografía líquida de alta resolución, dando como resultado valores claramente diferenciales con respecto al benceno en los diferentes grupos analizados. (Bracconi et al., 2017, p.363)

Además en Brasil, realizaron un estudio sobre Alteraciones hematológicas e inmunológicas tempranas en los empleados de las estaciones de gasolina que se encuentran expuestos al benceno, se evaluó a 60 trabajadores y 28 sujetos de control, el monitoreo ambiental y biológico de la exposición al benceno se realizó en sangre y orina, los marcadores evaluados fueron la enzima  $\delta$ -aminolevulínico deshidratasa (ALA-D), la expresión de CD80 y CD86 en linfocitos y monocitos

, y la interleucina-8 (IL-8) en suero. Como resultado se encontró una reducción de la actividad de ALA-D, una disminución de la expresión de CD80 y CD86 en monocitos y un aumento de los niveles de IL-8 en el grupo de estudio en comparación con los sujetos de control. Estos hallazgos sugieren, un efecto potencial de la exposición al benceno sobre la actividad de ALA-D, la expresión de CD80 y CD86, y los niveles de IL-8, que podrían sugerirse como marcadores potenciales para la detección temprana de alteraciones inducidas por el benceno. (Moro et al., 2015, p. 347-353)

De los pocos estudios referentes al tema, en el Ecuador, en la Ciudad de Quito durante el año 2016 se realizó una investigación sobre la Valoración del sistema inmune y hematológico en trabajadores expuestos a componentes de la gasolina en estaciones de servicio de combustible, en donde se analizaron un total de 61 muestras sanguíneas de los despachadores que cumplieron los criterios de inclusión y firmaron un consentimiento informado. Dentro del análisis se les realizaron una Biometría hemática automatizada y estudio de placa de sangre periférica, una cuantificación sérica de inmunoglobulinas IgG e IgA y un ensayo para evaluar la capacidad fagocítica de sus células, se obtuvo como resultado que: el 32,8% presentó neutropenia; el 19,7% linfocitosis, el 14,8% basofilia, el 23% hematocrito alto y el 32,8% altas concentraciones de hemoglobina. En el estudio de placa se halló que: el 39.3% de los pacientes tenía un promedio de  $7 \pm 2$  (%) hipersegmentados sobre 100 neutrófilos contabilizados y en el 47.5% se encontró una cantidad considerable de linfocitos con granulación citoplasmática. (Chávez, 2016, p.15-20)

## **1.2. Cáncer. Definición**

El cáncer es una enfermedad producida por la división incontrolada de células que forman parte de nuestro organismo y sufren alguna alteración genética o epigenética. Al contrario de las células normales que tienen una muerte programada una vez finalizada su función, las células tumorales desarrollan mecanismos para dividirse sin límite, evitar los procesos de muerte celular programada e invadir nuevos tejidos y órganos con graves consecuencias. (Manel, 2017, p. 18-19)

### **1.2.1. Clasificación**

Los tumores se clasifican en función de su origen celular. Pueden proceder de células epiteliales que forman el tejido que recubre la mayoría de nuestros órganos y toman el nombre de carcinomas, de células que constituyen los huesos, músculos y vasos sanguíneos tomando el nombre de sarcomas o de células de la sangre o de la medula ósea y se las conoce como leucemias y las que afectan el sistema linfático como linfomas. (Manel, 2017, p. 18-19; Instituto nacional de cáncer, 2017, p.14)

Además, los tumores pueden ser malignos o benignos, estos últimos son conocidos como adenomas, son de crecimiento lento, no se propagan a otros tejidos y rara vez se reproducen tras ser extirpados, mientras que los tumores malignos son de crecimiento rápido, no inhiben su crecimiento por contacto, se propagan tempranamente a otros tejidos, recurren con frecuencia tras ser extirpados y provocan la muerte en un periodo variable de tiempo, si no se realiza un tratamiento. Morfológicamente las células tumorales son anaplásicas en grado variable y, varían desde los muy diferenciados hasta los indiferenciados. Un grado de diferenciación bajo indica que las células tumorales son muy diferentes de la célula de la que proceden, cuanto más indiferenciadas sean las células, mayor es su malignidad y más alta es su velocidad de crecimiento. (De la Garza y Juárez, 2014, pp. 36-39)

### **1.3. Alteraciones oncofetales y embrionarias**

Las células de nuestro organismo al dividirse dan lugar a dos células hijas iguales con la misma información genética en su núcleo, en estos procesos se pueden producir mutaciones que afectan a los genes que codifican proteínas implicadas en el control de los procesos de proliferación celular, generando malformaciones congénitas, dichas alteraciones actúan en el embrión durante su concepción y crecimiento intrauterino, aunque las anomalías genéticas consideradas individualmente son poco frecuentes en conjunto constituyen la primera causa de mortalidad pre y post natal y de morbilidad infantil en los países desarrollados. (Manel, 2017, p. 20; Matinez, 2003, p. 4)

#### ***1.3.1. Causa de las alteraciones***

El proceso por el cual se producen las malformaciones se debe a las anormalidades en el material genético de las células que se desarrollan por causas genéticas, nutricionales, ambientales o tóxicas entre ellas tenemos: agentes carcinógenos como las irradiaciones ionizantes o ultravioleta, por algunos productos químicos como el benceno y el plomo, y por agentes infecciosos como el virus del papiloma humano y el de la hepatitis B. (De la Garza y Juárez, 2014, pp. 38-39; Manel, 2017, p. 20-21)

Toda persona se encuentra expuesto diariamente a pequeñas cantidades de benceno que puede ser de 700 a 3,000 ppm, la exposición general se debe a la inhalación del compuesto localizado en el aire libre a través de los gases del tubo de escape de los automóviles, emisiones industriales y por el humo del tabaco, los niveles de benceno al aire libre oscilan entre 0.02 y 34 partes de benceno por billón. (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2015)

Asimismo, se genera una exposición ocupacional en aquellas personas que trabajan en industrias que manufacturan o usan benceno como los trabajadores de las estaciones de servicio que transportan, almacenan y expenden combustible, otras personas que se encuentran expuestas al agente químicos son los obreros de las industrias de calzado, caucho y acero que están expuestos a niveles de benceno más alto que va de 10,000 a 20,000 ppm. Existen diferentes factores que establecen si la exposición a este compuesto desarrollará efectos adversos, así como el tipo y severidad de los posibles efectos, estos factores incluyen a la cantidad de benceno a que se expuso y la duración de la exposición. (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2015) En los últimos años ha aumentado el interés por el estudio de las alteraciones en la salud del feto en relación con las exposiciones ambientales, los efectos en el desarrollo fetal pueden tener consecuencias inmediatas, e incluso a largo plazo, en la salud de los individuos. (Esplugues et al., 2007, p.163)

### ***1.3.2. Consecuencia de las malformaciones genéticas por agentes químicos***

Las malformaciones genéticas van a presentarse de acuerdo a la cantidad y a la duración a la cual se encontró expuesta la madre, a mayor exposición se producirán mutaciones, fusión, amplificación y delección de genes que dan lugar al inicio de una displasia, progresión del cáncer y un proceso de metástasis, que se desarrollan por interacciones entre las células tumorales y las del estroma que forman parte del microambiente tumoral, las células que se encuentran en el estroma del tumor juegan un papel importante no solo en la progresión del tumor ya que actúan sobre los procesos de diseminación, metástasis y colonización de órganos, sino también en la iniciación del cáncer. (Manel, 2017, p. 24-26)

Las malformaciones más importantes son producidas durante el período de mayor vulnerabilidad, que comprende de la tercera a la octava semana de gestación, por lo que los hidrocarburos que afectan al feto interfieren en la mitosis, así como en la capacidad proliferativa de las células, además inhiben la migración celular, causando la falta de precursores, sustratos y coenzimas para la biosíntesis lo que genera dificultad en el aporte energético, también inhiben enzimas específicas imprescindibles para la iniciación del desarrollo y provocan compresión física e insuficiencia vascular. (Silva et al., 2018, p.660)

El benceno también produce alteraciones en la sangre, las personas que respiran este compuesto químico durante períodos prolongados puede sufrir daño de los tejidos de las células de la sangre, estos efectos pueden interrumpir la producción de elementos sanguíneos y generar una disminución de algunos componentes importantes como los glóbulos rojos y conducir a anemia, la reducción de otros componentes causa hemorragias, esta disminución puede normalizarse

cuando haya terminado la exhibición al hidrocarburo. De igual forma es perjudicial para el sistema inmunitario, aumentando las probabilidades de contraer infecciones y disminuyendo las defensas del cuerpo contra el cáncer. (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, 2015)

#### **1.4. Marcadores Tumorales**

Los marcadores tumorales (MT) son sustancias producidas por las células cancerígenas o células sanas en respuesta a una agresión por parte de células tumorales, dichas sustancias se forman en cantidades suficientes que pueden ser identificados a través de métodos bioquímicos, inmunológicos y por técnicas moleculares o genéticas, permitiendo diagnosticar cáncer, estas sustancias biológicas son considerados como indicadores bioquímicos que pueden ser cuantificados en sangre, orina o tejidos, algunos de ellos se encuentran normalmente en etapas embrionarias y fetales, sin embargo, cuando hay alteraciones tumorales su concentración se incrementa en la edad adulta. ( Carrascosa, 2002, p. 2; Maldonado, Pereyra, 2015, p.5; Romo, 2012, p. 144)

El correcto uso de los MT para su aplicación en el área clínica necesita del conocimiento sobre lo que refiere sensibilidad y especificidad en términos epidemiológicos, de esta manera, se define sensibilidad al porcentaje de pacientes portadores de un determinado tumor, con valores patológicos, superiores a la normalidad, de un determinado marcador su opuesto serían los falsos negativos y se considera especificidad el porcentaje de pacientes sin un tumor maligno, con valores normales de un determinado marcador su opuesto serían los falsos positivos. (Hermida et al. 2016, p.12)

Se puede determinar el nivel de los marcadores en la sangre con distintos fines: diagnosticar la presencia de una masa tumoral, valorar el pronóstico de la enfermedad, realizar un seguimiento de la evolución de la enfermedad, evaluar la respuesta al tratamiento, ayudar en el estadiaje a la clasificación del tumor, ayudar en la locación del tumor y sus metástasis y determinar la eficacia terapéutica empleada. (Romo, 2012, p. 148)

##### ***1.4.1. Marcador tumoral ideal***

El valor clínico de un marcador dado depende de su utilidad clínica y de su especificidad y sensibilidad, no solo en la orientación, diagnóstico, seguimiento y monitorización de la enfermedad sino también a nivel de factores pronósticos constituye cada vez más un campo de desarrollo. Un marcador ideal debería tener valores de especificidad y sensibilidad al 100%, pero ningún marcador cumple absolutamente con este precepto. (Salvidia, et al., 2012. p.4; Bal de Kier, et al., 2008, p.144)

Las características que debe presentar el marcador tumoral ideal que se muestra a continuación:

**Tabla 1-1.** Características del marcador tumoral ideal

Características	Observaciones
Alta especificidad	Detectable en un solo tipo de tumor
Alta sensibilidad	Indetectable en estado fisiológico y tumores benignos
Correlación niveles grado tumor	Utilidad en el diagnóstico y la predicción
Muestras fáciles de obtener	Aceptabilidad por la población diana
Ensayos sencillos y baratos	Aplicables como test de screening
Vida media corta	Permite frecuentes monitorizaciones en serie

Fuente: (Lavín, 2015)

Realizado por: Shagñay Katherine, 2020

#### 1.4.2. Clasificación de los marcadores tumorales

Se puede realizar diferentes clasificaciones de los marcadores tumorales tomando en consideración distintas características de estos biomarcadores, entre las principales clasificaciones tenemos:

##### 1.4.2.1. Clasificación según su estructura bioquímica

Los marcadores tumorales habitualmente se agrupan, en antígenos oncofetales, glucoproteínas, enzimas, hormonas, proteínas séricas y otros, como se puede observar en la siguiente tabla:

**Tabla 2-1.** Clasificación de los marcadores tumorales más utilizados

Antígenos oncofetales	Antígeno carcinoembrionario (CEA) Alfafetoproteína (AFP) Gonadotropina coriónica humana (HCG)
Glucoproteínas	Antígeno específico de la próstata (PSA) CA-125 CA15-3 CA19.9 CA72.4
Enzimas	Lactato deshidrogenasa (LDH) Enolasa neuronoespecífica (NSE) Fosfatasas ácidas Fosfatasa alcalina
Hormonas	Serotonina Catecolaminas Adenocorticotropina (ACTH) Antidiurético (ADH)
Proteínas séricas	Ferritina Inmunoglobulinas Beta-2-microglobulina
Otros	Iones de cobre, zinc, hidroxiprolina

Fuente: (Hermida et al., 2016)

Realizado por: Shagñay Katherine, 2020

#### *1.4.2.2. Clasificación según su aplicación clínica*

**Marcadores diagnósticos:** Se utiliza para determinar la presencia o no de cáncer, también se utiliza para establecer el origen de un tumor indiferenciado y nos ofrece una información precisa sobre la agresividad de las células tumorales. (Bal de Kier, et al., 2008, p.144-145; Romo, 2012, p. 147)

**Marcadores terapéuticos:** Nos informa sobre las respuestas de las células tumorales a los diferentes tratamientos. (Romo, 2012, p. 147)

**Marcadores de evolución:** Nos ofrece información sobre la evolución de la enfermedad o la respuesta tumoral a un determinado tratamiento, al indicar el estadio, es decir, si la enfermedad ha avanzado y las células cancerosas se han diseminado fuera del tumor primario. (Romo, 2012, p. 148; Bal de Kier, et al., 2008, p. 145)

**Marcadores genómicos:** Sustancias originadas por las alteraciones genómicas de las células tumorales. (Romo, 2012, p. 147-149)

#### *1.4.3. Principales marcadores tumorales*

Entre los principales marcadores tumorales con mayor utilidad dentro del área clínica se encuentran: el Antígeno carcinoembrionario, Antígeno específico de la próstata, Antígeno carbohidratado CA 125, CA 15.3 y CA 19.9, además del Alfa fetoproteína y la Hormona gonadotropina coriónica humana. (Ramírez, 2012, p.3)

### **1.5. Antígeno carcinoembrionario**

#### *1.5.1. Generalidades*

El antígeno carcinoembrionario (CEA), es una glicoproteína descrita en 1965, recibe su nombre porque es posible encontrarla en el endodermo primitivo y está ausente en la mucosa normal del adulto, se ha utilizado como marcador tumoral en el cáncer colorrectal (CCR), especialmente en el seguimiento de los pacientes sometidos a cirugía con intención curativa, pero el CEA no es específico del CCR, se puede también encontrar sobreexpresado en tumores de mama, pulmón, páncreas, etc., e incluso, en condiciones no neoplásicas como cirrosis hepática y en los fumadores, su sensibilidad y especificidad varía dependiendo del sitio y tamaño del tumor primario. Su mayor concentración se observa en el tracto gastrointestinal y en el suero fetal, pero también en cantidades mínimas, en el tejido intestinal, pancreático y hepático de adultos sanos, la formación

de CEA va reduciéndose tras el nacimiento, de forma que en el suero de adultos sanos se encuentra en cantidades apenas mensurables. (Bannura et al., 2015, p. 692; Roa y Meranue, 2012, p. 10 )

### ***1.5.2. Valores de referencia***

Se consideran valores normales aquellos que sean menor o igual a 5 ng/ml, el grado de elevación del CEA se relaciona con el estadio del tumor de tal forma que valores superiores a 20 ng/ml son indicativos de enfermedad avanzada, en un 90% estas elevaciones indican la presencia de cáncer colorrectal pero también pueden encontrarse valores séricos elevados de CEA en otros procesos malignos como el cáncer de pulmón, mama y estómago o benignos como la enfermedad inflamatoria intestinal, hepatopatías difusas o pancreáticas. ( Borda et al., 2015, p. 3; Hermida et al., 2016, p.35)

## **1.6. Alfa fetoproteína**

### ***1.6.1. Generalidades***

La Alfa fetoproteína (AFP) es un conjunto de glicoproteínas heterogéneas, cuyo gen se localiza en el cromosoma 4, y se produce en el humano durante su desarrollo fetal tanto en el hígado como en el saco vitelino, la síntesis de esta glicoproteína se declina gradualmente y desaparece de 6 a 12 meses después del nacimiento, cuando se inicia una mayor síntesis de la albumina sérica, la AFP es considerado como un marcador oncofetal que se utilizan en el diagnóstico clínico de los trastornos hepáticos, se encuentran expresado en la membrana celular o pueden ser secretados al torrente circulatorio. (Nikulina et al. 2015, p. 100; Maldonado, Pereyra, 2015, p.6)

### ***1.6.2. Valores de referencia***

El valor normal de la AFP es menor o igual a 10 ng/ml, este resultado puede verse elevado en situaciones de carcinoma hepatocelular, además se detecta un aumento moderado de AFP en un 15% en cáncer gastrointestinal, también, este marcador se eleva en estados no neoplásicos como en los trastornos hepáticos agudos o crónicos incluido la cirrosis, así como hepatitis y enfermedades hepáticas tóxicas que ocurre principalmente después del uso del paracetamol y anestésicos en estos casos el aumento de Alfa fetoproteína es de 100 ng/ml. ((Nikulina et al. 2015, p. 101)

## 1.7. Método ELISA

La técnica ELISA son las siglas por las que se le conoce al ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (en inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), es una técnica diseñada por científicos suecos y holandeses en el año de 1971, la cual permite identificar inmunocomplejos por medio de enzimas unidas al antígeno o al anticuerpo, estando uno de ellos adsorbido a un soporte sólido polimérico, habitualmente a una placa de poliestireno. El aparato de medición a utilizar, generalmente es un espectrofotómetro o un fluorómetro esto dependerá de la enzima conjugada al anticuerpo. (Suárez, 2017, p.91; Aydin, 2015)



**Figura 1-1.** Estructura de un anticuerpo

Fuente:( Calderón, 2007)

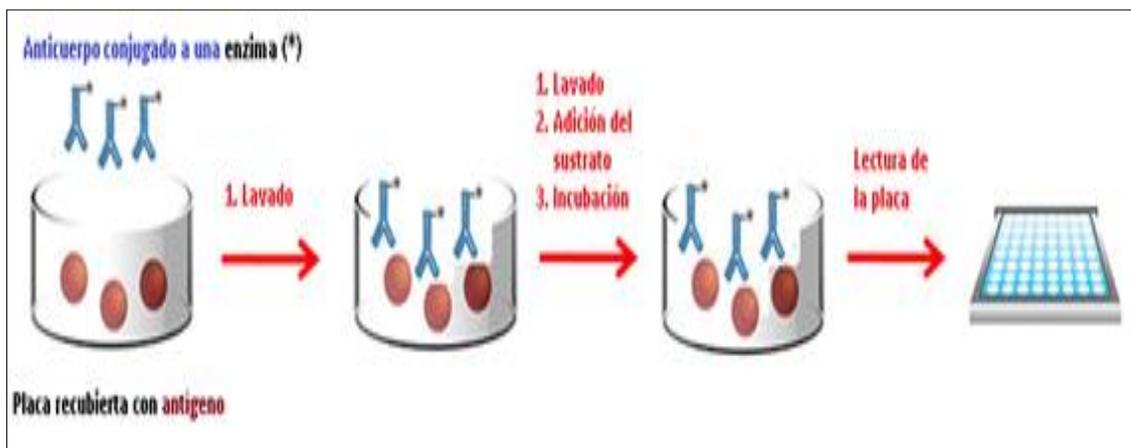
En este inmunoensayo enzimático, siempre se realiza una separación entre el inmunocomplejo formado sobre la fase sólida y las biomoléculas no fijadas, esta separación puede hacerse por simple aspiración y lavado, lo que permite eliminar todos los componentes de la muestra que podrían interferir en el ensayo, la separación entre los inmunorreactantes libres y fijados puede hacerse también por sedimentación que captura los inmunocomplejos de interés, por filtración, difusión radial y otros principios inmunocromatográficos que han servido de base a ensayos rápidos. La técnica ELISA se fundamenta en la premisa de que luego de acoplar antígenos solubles o anticuerpos a una matriz sólida insoluble, éstos retienen la actividad inmunológica y en que estas biomoléculas también pueden unirse a una enzima, reteniendo el conjugado resultante tanto la actividad enzimática como inmunológica, su principal ventaja es el alto grado

de sensibilidad que depende de las características particulares de la interacción anticuerpo antígeno (ac-ag) , detectabilidad presentando un rango de detección de 0.01 ng a 0.1 ng además de la precisión y exactitud (Ochoa, 2012, p. 7; Bio-rad Laboratories.Inc, 2017, pp.14-15)

### 1.7.1. Clasificación de los ELISAs

#### 1.7.1.1. ELISA Directo

En este tipo de ELISA la superficie de una placa se recubre directamente con la muestra y se incubaba con un anticuerpo conjugado a una enzima, la incubación es seguida por un lavado, que elimina los anticuerpos no unidos del medio, luego se agrega el sustrato apropiado al medio, produciendo una señal directamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra, es un ensayo muy rápido porque solo se utiliza un anticuerpo. (Aydin, 2015, p.5; Bio-rad Laboratories.Inc, 2017, p. 6)



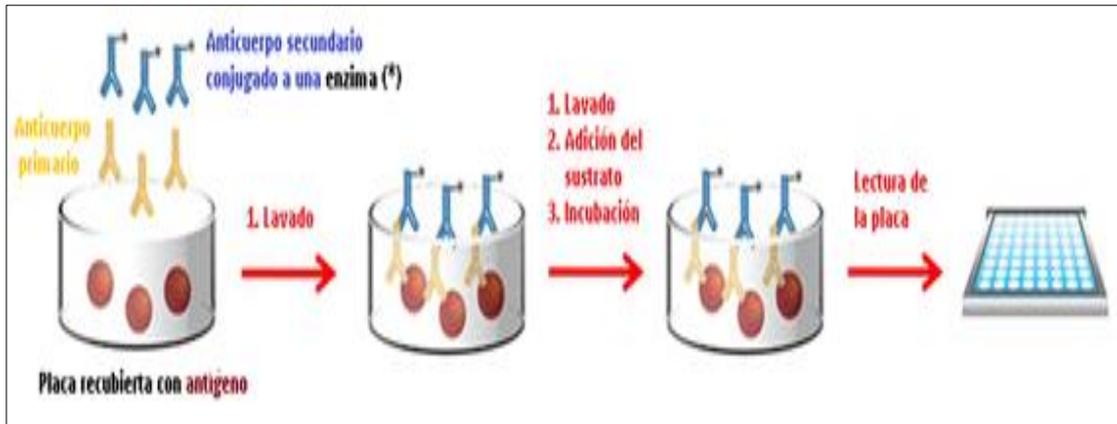
**Figura 2-1.** Esquema del ensayo ELISA directo

Fuente: (León, 2019)

#### 1.7.1.2. ELISA Indirecto

Método en el cual los antígenos capturan a los anticuerpos y la reacción se evidencia por el conjugado antiinmunoglobulina-enzima, la cantidad de enzima enlazada indica la cantidad de anticuerpos en el suero y puede ser medida por la degradación de su sustrato. Se utilizan tanto un anticuerpo primario como un anticuerpo secundario, el anticuerpo primario no está marcado con una enzima, en cambio el anticuerpo secundario está marcado con una enzima. El antígeno se encuentra fijo al pocillo en el cual se va añadir el suero o alguna muestra que contenga un anticuerpo primario, se elimina por lavado cualquier anticuerpo primario libre, el anticuerpo unido al antígeno se detecta al añadir un anticuerpo secundario conjugado con una enzima la cual se une al anticuerpo primario, seguido se realiza otro lavado en el que se eliminará el anticuerpo

secundario libre y se añade un sustrato para la enzima, finalmente se usa un lector de placa para medir la cantidad de producto de reacción coloreado, fluorescente o luminiscente comparando con la cantidad de producto producido. (Ochoa, 2012, p.25; Owen et al.,2014, p.660)

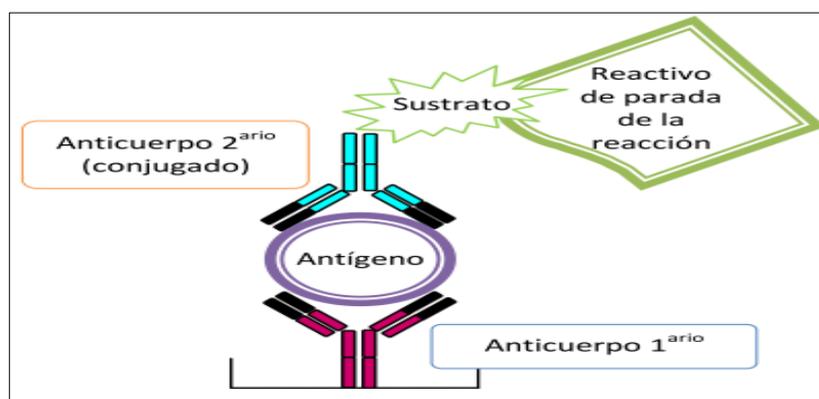


**Figura 3-1.** Esquema del ensayo ELISA indirecto

Fuente: (León, 2019)

### 1.1.7.3. ELISA tipo sándwich

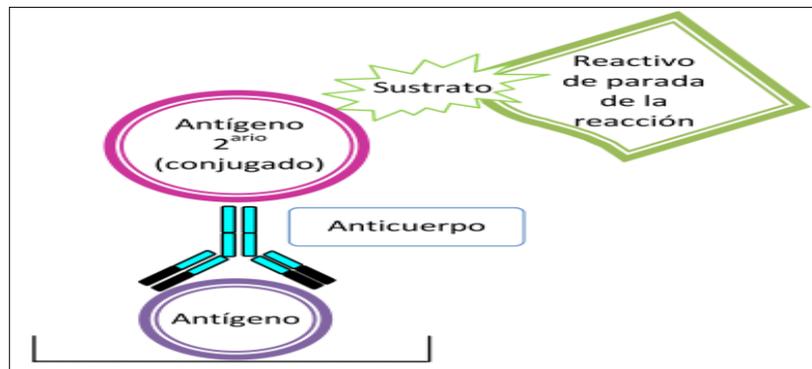
El ELISA sándwich es un ensayo de captura de antígeno o anticuerpo y detección mediante inmunocomplejos, la prueba del doble anticuerpo (Ac) en sándwich se emplea para la detección de antígenos (Ag), para su realización se necesitan 2 anticuerpos apropiados: uno primario unido a la fase sólida y uno secundario unido a la enzima que se unirán a epítopos diferentes del Ag, tras añadir la muestra que contiene el Ag a concentraciones variables, se incuba con el Ac secundario o conjugado. El complejo final estará formado por un Ac- enzima externo, un Ag en medio y un Ac interno, es decir, un sándwich en capas. (Suárez, 2017, p.99)



**Figura 4-1.** Esquema del ensayo ELISA sándwich doble anticuerpo

Fuente: (Suárez, 2017)

Puede ser sándwich directo si el anticuerpo de detección esta conjugado con enzimas y sándwich indirecto es cuando el anticuerpo de detección utilizado no está marcado, se requiere de un anticuerpo de detección enzimático conjugado secundario; este ensayo tiene gran sensibilidad y especificidad debido al segundo anticuerpo, además, son muy útiles para la evaluación de la respuesta inmune inducida por vacunas. (Rubio et al., 2016, p.117. Suárez, 2017, p.100-101)



**Figura 5-1.** Esquema del ensayo ELISA sándwich doble antígeno

Fuente: (Suárez, 2017)

#### 1.7.1.4. ELISA Competitivo

En la fase sólida se encuentran inmovilizados los Ac o Ag que se unirán con el conjugado antígeno-enzima o anticuerpo-enzima, a la vez estos serán inhibidos si existe un analito no marcado en la muestra, las incubaciones que se realizaran entre las muestras y conjugados pueden variar efectuándose de manera simultánea o secuencial, la sensibilidad y detectabilidad de este ensayo es menor a que los otros tipos de ELISAs. (Ochoa, 2012, p.7-8)

### 1.8. Gasolina y sus componentes

La gasolina es una mezcla compleja de hidrocarburos inflamables y volátiles con un rango de ebullición de 50°C a 200°C, que se obtienen después de la destilación del crudo de petróleo, el número de octanos de una gasolina indican la temperatura y presión a la que puede ser sometido el combustible antes de detonarse, entre mayor es el octanaje de un combustible, mayor desempeño poseerá el vehículo que lo use. (Matos, 2017, p. 22)

Los principales componentes que presenta la gasolina son un amplio grupo de compuestos hidrocarbonados alifáticos, cuyas cadenas contienen hasta 10 átomos de carbono y constituyen el 51.15%, también está formado por hidrocarburos aromáticos que representan el 19.35% en los que se incluye benceno, tolueno y xileno, además posee otros hidrocarburos como naftenos y olefinas. En la actualidad la gasolina no contiene plomo que anteriormente se utilizaba como un

antidetonante para mejorar el octanaje del combustible, esto debido a los problemas ambientales y a las consecuencias tóxicas en la salud se prohibió su uso. (Agencia de Regulación y control de Hidrocarburos, 2014, p.12)

### ***1.8.1. Benceno***

El benceno es un líquido claro ampliamente utilizado en la industria química, es muy volátil e inflamable y presenta un intenso olor dulce, el sabor se puede sentir en el agua cuando el compuesta se encuentra en una concentración entre 0.5 y 4.5 ppm y el olor se detecta cuando se encuentra entre 1.5 y 4.7 ppm. Muchos estudios epidemiológicos y ocupacionales lo ubican como un compuesto con capacidad carcinogénica, en la gasolina se encuentra tanto en su estado sin conjugarse como formando muchos derivados, todos estos son productos de la destilación del crudo de petróleo. (Chávez, 2016, p. 40)

Su absorción ocurre rápidamente por ingesta, inhalación y absorción dérmica, gracias a su capacidad lipofílica puede atravesar las membranas alveolares hacia la circulación sanguínea, esta etapa sanguínea es breve ya que rápidamente se acumula en tejidos ricos en lípidos como el cerebro, el hígado y la médula ósea. Después de su absorción una parte menor al 1% sin transformar es eliminado por la orina mientras que del 10 al 50% es eliminado por el aire espirado según la actividad metabólica y la cantidad del tejido adiposo, el resto es metabolizado fundamentalmente en el hígado. (Ordoñez, 2013, p.24)

### ***1.8.2. Tolueno***

El Tolueno inhalado se adsorbe en pulmones y se transporta por la sangre a otros tejidos y órganos, es absorbido en el tracto digestivo, se acumula rápidamente en el cerebro, subsecuentemente se acumula en tejido adiposo en donde se retiene en altos niveles de concentración, es causante de hepatopatía, ataxia, temblores y alteraciones en el comportamiento. (Ramírez, 2012, p. 43)

### ***1.8.3. Xilenos***

La toxicidad de los Xilenos es muy parecida a la del Benceno, este compuesto es adsorbido por pulmones y el tracto intestinal, y es distribuido a los tejidos de acuerdo a su irrigación sanguínea. (Ramírez, 2012, p.43-44)

## **1.9. Diésel**

El gasóleo derivado del petróleo está compuesto en un 75% de hidrocarburos saturados cuyas cadenas tiene de 9 a 20 átomos de carbono en donde se encuentran las parafinas y de hidrocarburos aromáticos que representan el 25%, presenta una temperatura de destilación de entre 149 y 3850°C. (Angamarca, 2014, p.28) El 12 de junio de 2012 la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), que forma parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó el humo diésel como cancerígeno para los humanos ubicándola dentro del Grupo 1, esta categoría se utiliza cuando hay datos probatorios suficientes de la carcinogenicidad en seres humanos, para clasificarlo se basaron en las evidencias que muestran un riesgo aumentado para el cáncer de pulmón debido a la exposición al humo diésel. (Angamarca, 2014, p.29)

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1 Tipo de investigación

Por el método de investigación

- Cuantitativo

Según el objetivo

- Aplicada

Según el nivel de profundización en el objeto de estudio

- Descriptiva

Según la manipulación de variables

- No experimental

Según el tipo de inferencia

- Deductiva – inductiva

Según el periodo temporal

- Transversal

#### 2.2 Diseño de la investigación

No experimental porque en la investigación realizada no se manipularon las variables y se trabajó de forma directa con los sujetos que formaron parte del estudio.

#### 2.3. Área de estudio

La recolección de las muestras para la ejecución del estudio se obtuvo de los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato. El análisis de las respectivas muestras para la detección de los marcadores tumorales Antígeno carcinoembrionario y Alfa fetoproteína se realizó en el

laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### **2.4. Población de estudio**

La población de estudio está formada por los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato, esto incluye a las personas que trabajan en el área administrativa y en el área de despacho, además de otros trabajadores que no están en contacto directo con la gasolina.

#### **2.5. Tamaño de la muestra**

De la población señalada se tomó una muestra no probabilística de 90 personas (sueros)

#### **2.6. Método de muestreo**

Se utilizó un muestreo no probabilístico de acuerdo a la accesibilidad de las personas del estudio y del criterio del investigador.

#### **2.7. Materiales, equipos y reactivos**

##### ***2.7.1. Materiales***

##### **Encuesta**

- Esferos
- Hojas A4

##### **Análisis de Marcador Tumoral**

- Tubos tapa roja
- Torniquete
- Vacuntainer
- Agujas para vacuntainer
- Torundas de algodón
- Alcohol 70%
- Curitas
- Muestra de sangre
- Puntas amarillas graduadas
- Puntas azules graduadas

- Tubos eppendorf
- Pipeta automática 10-100  $\mu$ L
- Pipeta automática 100-1000  $\mu$ L
- Gradilla
- Marcador
- Toallas absorbentes

### **Material de protección**

- Cofia
- Mascarilla
- Mandil
- Guantes de látex

### **2.7.2. Equipos**

- Centrifuga DYNAC centrifuge
- Equipo lector de placas ELISA GEA (liner)

### **2.7.3. Reactivos**

- Set de reactivo para determinar Antígeno carcinoembrionario Monobind
- Set de reactivo para determinar Alfa fetoproteina Nova Tec
- Agua destilada

## **2.8. Socialización del tema de trabajo de titulación a los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato**

Por medio de un oficio dirigido a los Gerentes de las Estaciones de Servicio de la ciudad de Ambato, se pidió la autorización para poder ingresar a sus instalaciones y obtener las muestras de los trabajadores de estas empresas para el presente estudio, con el permiso obtenido, se procedió a socializar a los trabajadores sobre las pruebas que se iban a realizar, además las personas que participaron de la extracción sanguínea recibieron una charla informativa y un tríptico sobre la prevención de enfermedades.

## **2.9. Recolección de datos**

La recolección de datos se desarrolló en el transcurso de 5 días, en horarios de 7:00 am a 9:30am en las instalaciones de las diferentes gasolineras que contribuyeron con el desarrollo del trabajo de investigación, quienes proporcionaron espacios adecuados para la realización de la encuesta, toma de muestra a través de la venopunción y capacitación a los trabajadores.

Las muestras sanguíneas obtenidas fueron colocadas, almacenadas y transportadas en un cooler a una temperatura de 2 a 7°C para preservarlas en buenas condiciones hasta su localización en el laboratorio. El análisis de los marcadores tumorales Antígeno carcinoembrionario y Alfa fetoproteína, se realizó en el laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, además se con el apoyo profesional de los miembros que conforman el grupo de investigación LEISHPAREC.

## **2.10. Análisis de las muestras**

### **Análisis de Marcador Tumoral**

Para el análisis de los marcadores tumorales se necesita el suero sanguíneo que se obtiene de centrifugar las muestras sanguíneas a 1200 rpm durante 5 minutos, posteriormente con la ayuda de una pipeta automática se coloca el suero en los tubos eppendorf que se encuentran previamente codificados, finalmente los sueros están listos para ser utilizadas en el análisis del Antígeno carcinoembrionario y Alfa fetoproteína.

#### ***2.10.1. Determinación del Antígeno carcinoembrionario***

**Método:** ELISA

#### **Técnica:**

- 1.** Preparar el Tampón de Lavado: Diluir el contenido de concentrado de lavado en 1000 ml con agua destilada, almacenar de 2-30°C, hasta por 60 días.
- 2.** Preparar la solución de substrato de trabajo: Vierta el contenido del vial ámbar marcado como solución “A” dentro del vial claro marcado como solución “B”, mezclar y almacenar de 2-8° C.
- 3.** Marcar los pozos de la microplaca para cada calibrador y muestra.
- 4.** Pipetear 25 ul de suero de referencia y muestra dentro del pozo asignado.
- 5.** Adicionar 100 ul de reactivo CEA-enzima en todos los pozos.

6. Agitar suavemente la microplaca por 20-30 segundos y dejarla incubar por 60 minutos a temperatura ambiente, cubrirla de la luz.
7. Retirar el contenido de los pocillos y lavarlos adicionando 350 ul de solución de lavado, golpeando y secando la microplaca, este proceso se lo realiza 3 veces.
8. Adicionar 100 ul de solución de substrato de trabajo a todos los pozos, no agitar la microplaca y dejarla incubar por 15 minutos a temperatura ambiente.
9. Adicionar 50 ul de solución de parada en cada pozo.
10. Mezclar por 15 – 20 segundos.
11. Leer la absorbancia en cada pozo a 450 nm, usando una longitud de referencia de 620-630 nm para minimizar las imperfecciones del pocillo, la lectura se debe realizar dentro de los 30 minutos de adicionar la solución de parada. (Monobind, 2019)

### ***2.10.2. Determinación de Alfa fetoproteina***

**Método:** ELISA

#### **Técnica:**

1. Preparar de la solución de lavado: Diluir el contenido de concentrado de lavado en 1000 ml con agua destilada, almacenar de 2-8°C, hasta por 30 días.
2. Preparar el conjugado anti-AFP: Añadir 10 ul de conjugado y 1 ml de tampón de incubación, mezclar suavemente durante 5 minutos, la preparación es estable durante el lapso de 3 horas.
3. Marcar los pozos de la microplaca para cada calibrador, control y muestra.
4. Pipetear 25 ul de suero de referencia y muestra dentro del pozo asignado.
5. Adicionar 50 ul del conjugado diluido a cada pozo.
6. Agitar suavemente la microplaca por 20-30 segundos y dejarla incubar por 60 minutos a temperatura ambiente (22-28°C), protegido de la luz.
7. Retirar el contenido de los pocillos y lavarlos adicionando 300 ul de solución de lavado, golpeando y secando la microplaca, este proceso se lo realiza 3 veces.
8. Adicionar 100 ul de solución de substrato TMB a todos los pozos, no agitar la microplaca y dejarla incubar por 15 minutos a temperatura ambiente (22-28°C), protegido de la luz.
9. Adicionar 100 ul de solución de parada en cada pozo.
10. Mezclar por 15 – 20 segundos.
11. Leer la absorbancia en cada pozo a 450 nm, frente al blanco dentro de los 5 minutos. (Nova Tec, 2017)

### **2.11. Análisis estadístico**

Para realizar el análisis tanto de la encuesta, como de los valores obtenidos de los Marcadores Tumoraes Antígeno carcinoembrionario y Alfa fetoproteína se empleó la hoja de cálculo de Microsoft Office Excel 2016, que permitió organizar, clasificar y tabular los datos obtenidos a través de las fórmulas básicas.

Posteriormente se estableció la relación entre los trabajadores de las gasolineras y las personas que no trabajan de forma directa con los hidrocarburos, a través del Test F (Fisher) para determinar la varianza y del análisis estadístico prueba T de Student para dos poblaciones independientes suponiendo varianzas iguales.

## CAPÍTULO III

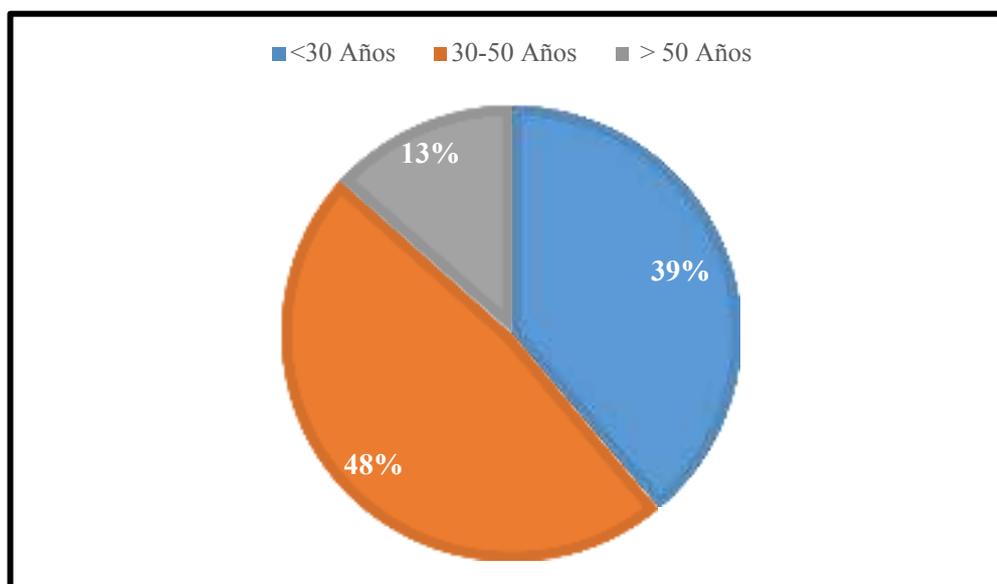
### 3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1. Resultado de las encuestas realizadas a los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato

**Tabla 1-3:** Edad de los trabajadores de las gasolineras

Edad	Nº personas	Porcentaje
<30 Años	35	39%
30-50 Años	43	48%
> 50 Años	12	13%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 1-3:** Edad de los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

#### **Análisis:**

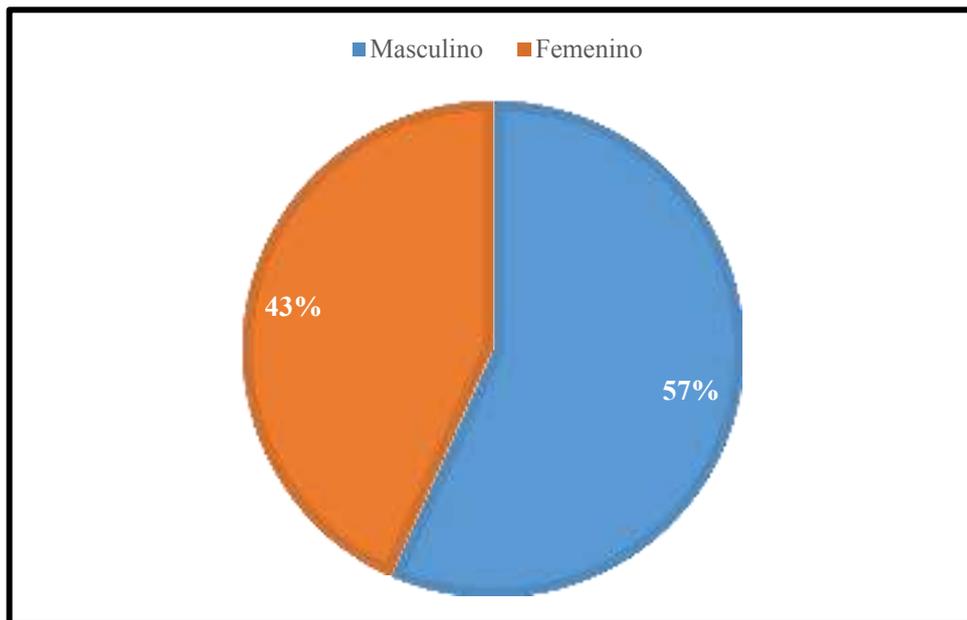
En el gráfico 1-3 se observa que el 39% de las personas que trabajan en las gasolineras cuentan con una edad inferior a los 30 años, el 48% presenta una edad entre 30 y 50 años, porcentajes representativos debido a que estos rangos de edades corresponden a una población económicamente activa, mientras que el resto de la población de estudio cuenta con una edad superior a los 50 años, que representa el 13%, esto debido a que empiezan a retirarse de sus actividades laborales para acogerse a la jubilación, al realizar la investigación bibliográfica no se

encontró estudios en donde se analizará este parámetro, por lo tanto no se puede realizar una comparación.

**Tabla 2-3:** Sexo de los trabajadores de las gasolineras

Sexo	N° personas	Porcentaje
Femenino	39	43%
Masculino	51	57%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 2-3:** Sexo de los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

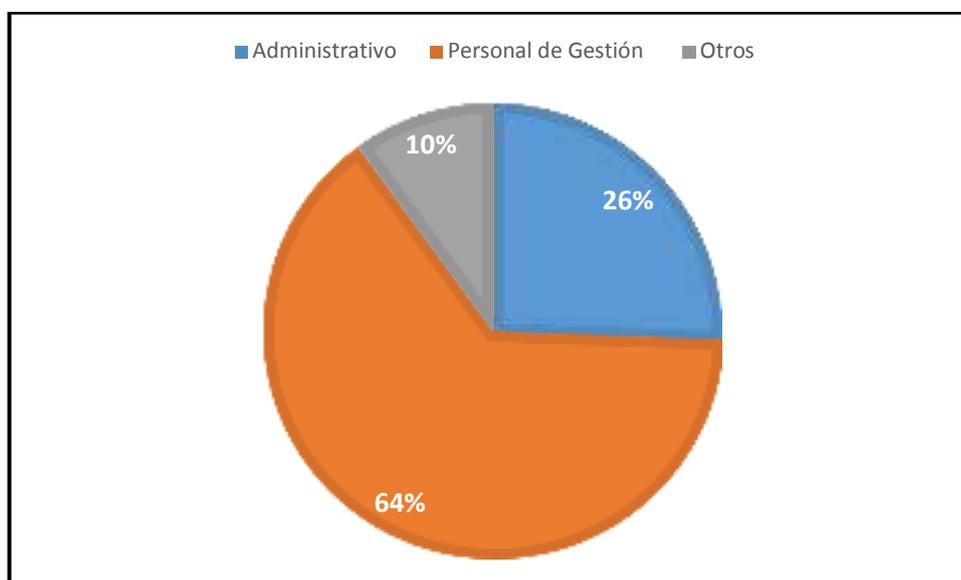
#### **Análisis:**

En el gráfico 2-3 se evidencia que el 57% de las personas que trabajan en las gasolineras corresponden al sexo masculino y el 43% de los trabajadores que ocupan los distintos puestos pertenecen al sexo femenino, estos resultados nos indican que se está desarrollado y generando una equidad en el área laboral, dejando atrás prejuicios sobre algunos pensamientos de que ciertos trabajos deben ser ocupados por un solo género, permitiendo que más personas se integren al área laboral, no se encontró información disponible sobre cuántas mujeres se desempeñan laboralmente en las estaciones de servicio.

**Tabla 3-3:** Pregunta N° 1. ¿Cuál es el cargo que desempeña en la empresa?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Administrativo	24	26%
Personal de Gestión	58	64%
Otros	8	10%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 3-3:** Cargo que ocupan los trabajadores en las gasolineras

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

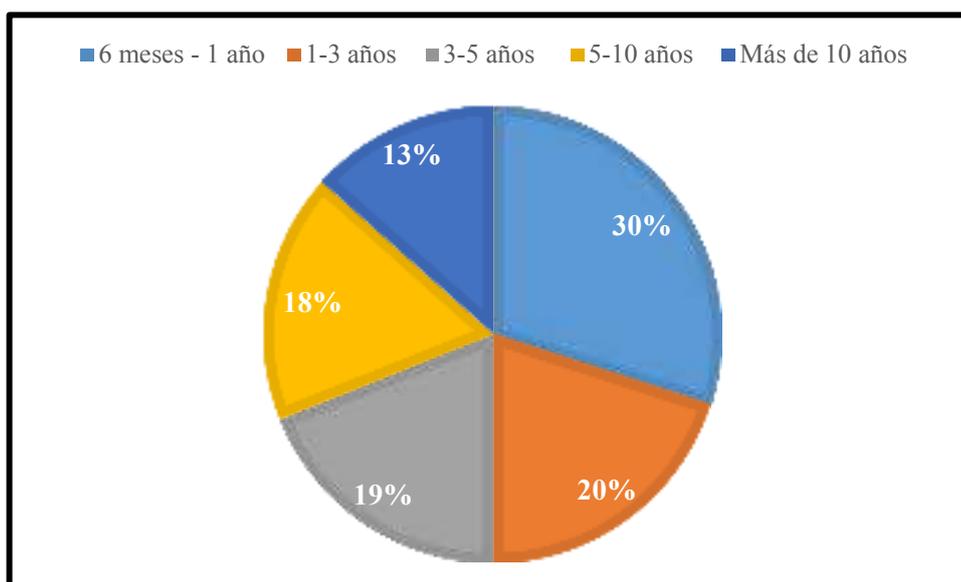
### **Análisis:**

En el gráfico 3-3 se manifiesta que el 64% de las personas que forman parte del estudio ocupan el cargo de personal de gestión, esto es, cumplen con la actividad de despachar el combustible, por otra parte, el 26% de las personas se encuentran en el área administrativa y el 10% se desempeña en otros cargos entre ellos guardias de seguridad, personal de limpieza y personal de atención de Minimarket; en comparación al “El estudio sobre la evaluación de la exposición de los empleados de gasolineras al benceno, tolueno y xilenos” realizado en la India, los resultados obtenidos son similares puesto que el estudio indica que el 50% de las personas que trabajan en las estaciones de servicio están conformados los despachadores, quienes son aquellos que realizan el principal trabajo de estos lugares de atención y además se encuentran de forma constante y directa en contacto con los hidrocarburos que provocan graves patologías a la salud. (Scheepers et al., 2019, p.3)

**Tabla 4-3:** Pregunta N° 2. ¿Qué tiempo lleva trabajando en esta empresa?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
6 meses - 1 año	27	30%
1-3 años	18	20%
3-5 años	17	19%
5-10 años	16	18%
Más de 10 años	12	13%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 4-3:** Tiempo de trabajo de las personas en las gasolineras

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

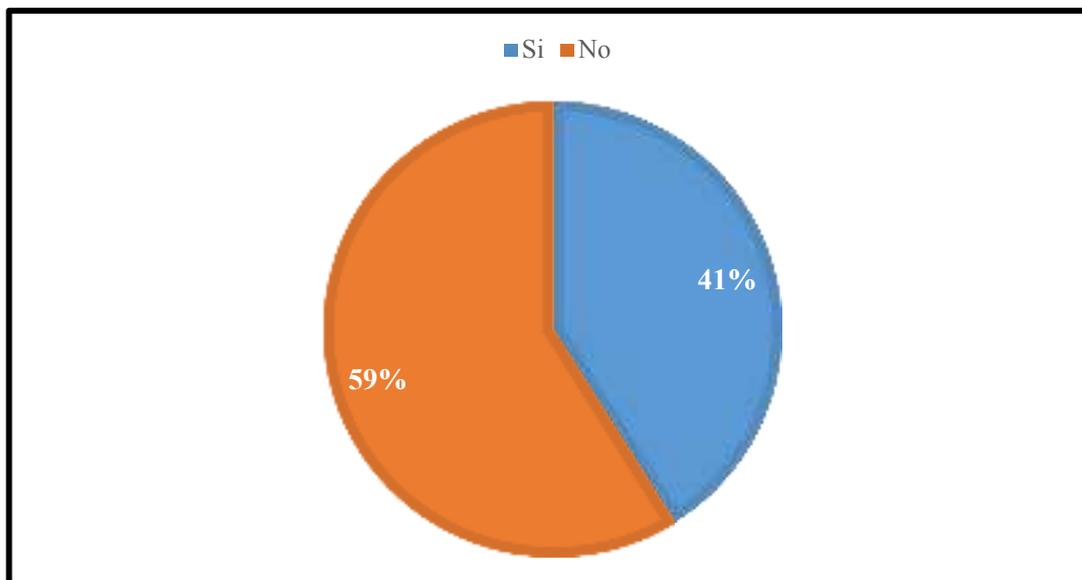
#### **Análisis:**

En el gráfico 4-3 se observa que el 50% de las personas se encuentran trabajando en las diferentes estaciones de servicio de 6 meses a 3 años, mientras que el 18% de 5 a 10 años y 13% lleva trabajando más de 10 años; al realizar la investigación bibliográfica no se encontraron estudios previos que indiquen el tiempo de trabajo de las personas que laboran en estos lugares, sin embargo, se sabe que a mayor tiempo de exposición a los vapores de gasolina, mayor será el efecto perjudicial sobre la salud, resultados que son causados de forma principal por el benceno, hidrocarburo que forma parte de la composición del combustible, por lo tanto se señala que la dosis, la duración y el tiempo de exposición a los que han sido sometidas las personas serán factores necesarios para establecer los daños que se desarrollen en el organismo a causa de los componentes de la gasolina. (Zubizarreta et al., 2018, p. 18)

**Tabla 5-3:** Pregunta N° 3. ¿Conoce usted a cerca de las enfermedades crónicas como Diabetes Mellitus, Hipertensión arterial, Insuficiencia renal?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Si	37	41%
No	53	59%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 5-3:** Conocimiento de las enfermedades crónicas por parte de los trabajadores

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

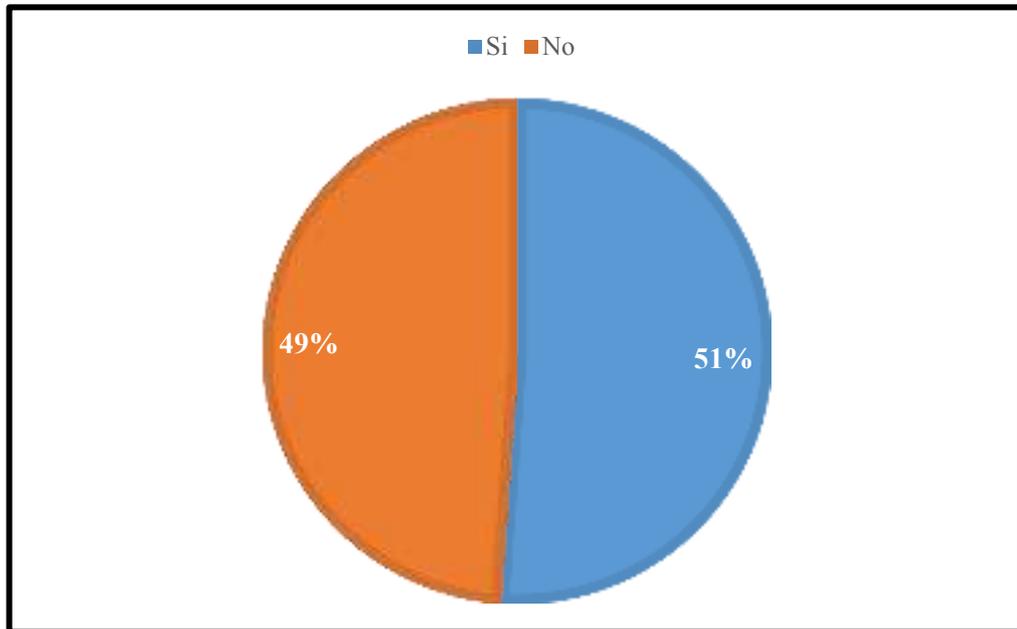
#### **Análisis:**

En el gráfico 5-3 se puede observar que el 59% de las personas que trabajan en las gasolineras no conocen ni tampoco poseen información sobre las enfermedades crónicas que aquejan a la población y apenas el 41% cuenta con información sobre la existencia de las enfermedades mencionadas; no se encontraron investigaciones previas sobre este tipo de información en las personas que se desarrollan en este ámbito laboral al llevar a cabo la investigación bibliográfica, acción que constituye un problema de salud pública porque la Diabetes Mellitus, Hipertensión arterial e Insuficiencia renal, se establecen como enfermedades que muestran un gran incremento en la población y son las responsables en gran medida de discapacidades y muerte a nivel mundial, su alta prevalencia, indica que se debe realizar acciones de manera urgente para poder enfrentarlas, comenzando por dar información a la ciudadanía sobre dichas enfermedades, acción que contribuye a la prevención de enfermedades. (Rodríguez, Muñis, 2014, p. 12)

**Tabla 6-3:** Pregunta N° 4. Realiza usted actividad física

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Si	46	51%
No	44	49%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 6-3:** Porcentaje de las personas que realizan actividad física

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

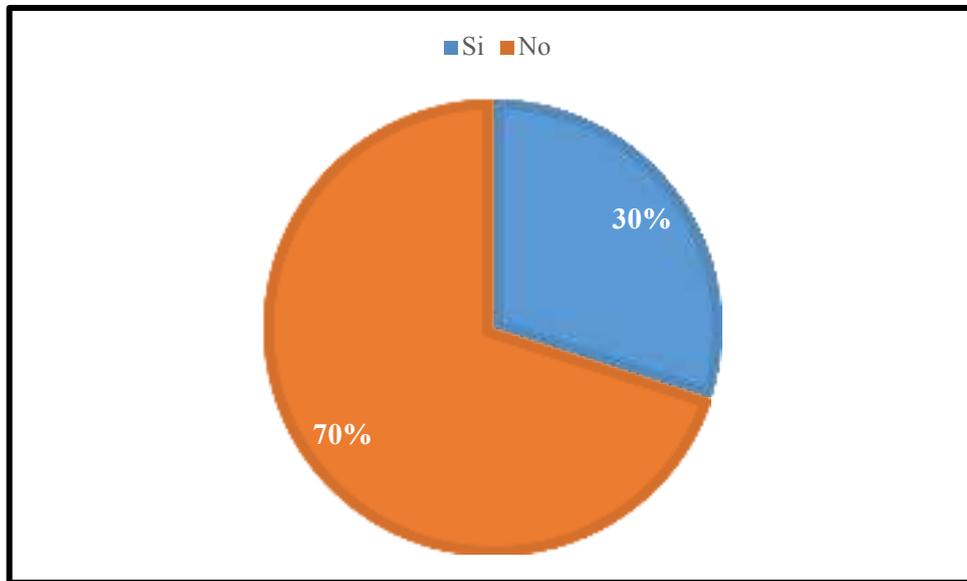
### Análisis:

Según los resultados que se muestran en el gráfico 6-3, el 51% de las personas encuestadas si realizan actividad física, acción que contribuye a mantener y mejorar el estado de salud, previniendo la aparición de enfermedades del corazón, cerebro vasculares, hipertensión, cáncer de mama, cáncer de colon, y depresión, mientras que el 49% no realiza ninguna actividad física, acto que conjuntamente como otros problemas como mantener una alimentación incorrecta, puede llevar a que las personas desarrollen enfermedades crónicas. (Ministerio de Salud Pública, 2013); los resultados obtenidos en la investigación se asemejan con el estudio en donde se “Evalúa la actividad física de los trabajadores de las estaciones de servicio”, en donde se ha obtenido una prevalencia del 37,8% de personas que no se encuentran realizando actividad física de forma regular. (Rodríguez, Muñis, 2014, p. 12)

**Tabla 7-3:** Pregunta N° 5. ¿Desayuna usted diariamente a la misma hora?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Si	27	30%
No	63	70%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 7-3:** Personas que desayunas a la misma hora

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

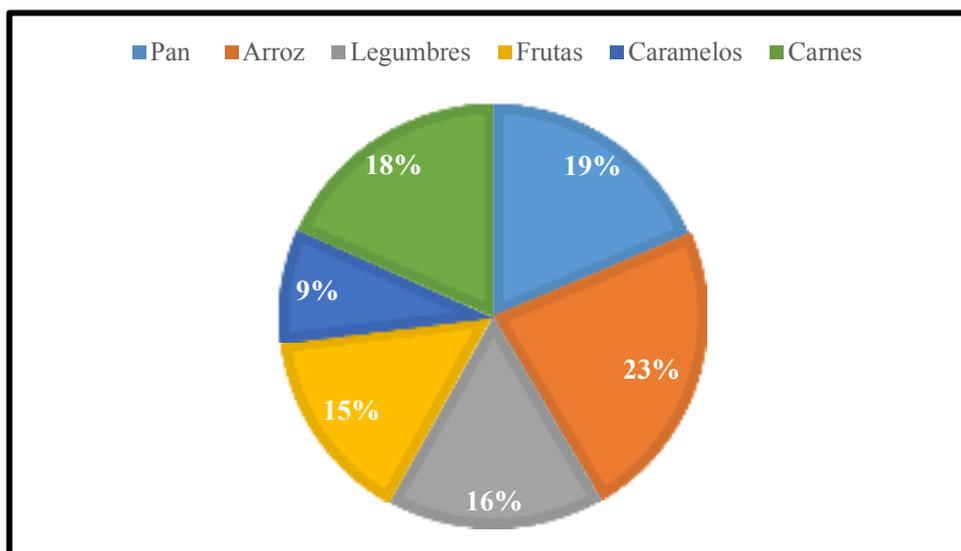
#### **Análisis:**

En el gráfico 7-3 se observa, que más de la mitad de las personas encuestadas no cuenta con un horario definido para desayunar, el 70% de los trabajadores respondió que no desayuna diariamente a la misma hora, mientras que el 30% indicó que si lo hace a una hora determinada; no existen estudios previos sobre la alimentación en los trabajadores de las gasolineras pero de acuerdo como lo indica el artículo “La cronobiología, la alimentación y la salud”, es necesario mantener de forma regular un horario de alimentación porque el horario de comida está relacionado de forma directa con el estado de salud, es decir, mantener un programa de alimentación reduce las posibilidades de presentar obesidad, además, de alteraciones cardiovasculares y otras enfermedades como la Diabetes Mellitus. (Garaulet, 2015, p.105-108)

**Tabla 8-3:** Pregunta N° 6. ¿Qué tipo alimentos consume frecuentemente?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Pan	62	19%
Arroz	77	23%
Legumbres	55	16%
Frutas	50	15%
Caramelos	29	9%
Carnes	61	18%
<b>TOTAL</b>	<b>334</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 8-3:** Alimentos que consumen los trabajadores de las gasolineras

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

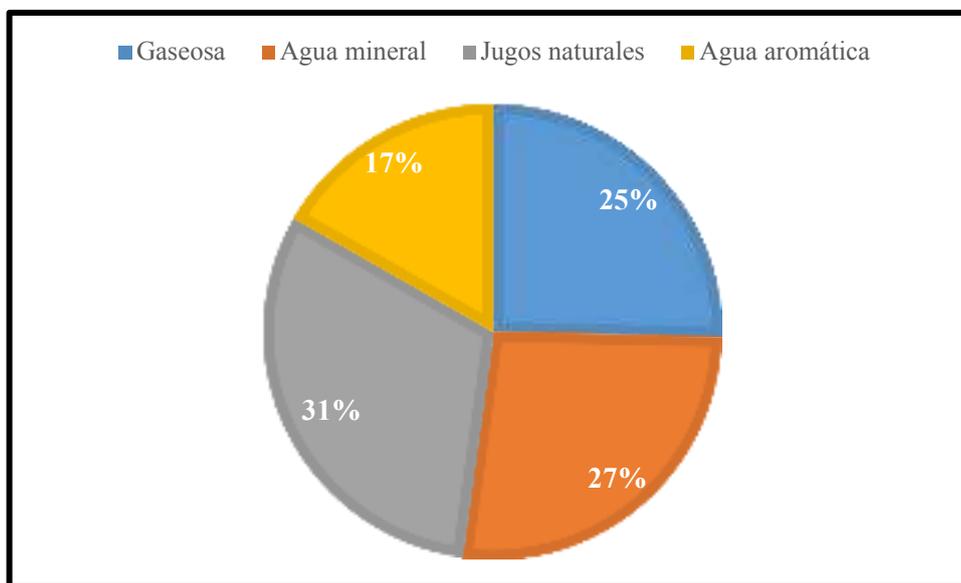
### Análisis:

En el gráfico 8-3 se evidencia que el 42% de las personas ingieren con frecuencia carbohidratos, principalmente arroz y pan, apenas el 18% consume usualmente proteínas como la carne, mientras que el 16% y 15% ingieren de forma regular legumbres y frutas respectivamente; al realizar la investigación bibliográfica no existió estudios que se relacionen sobre el tema tratado, pero información encontrada en el artículo “Alimentación Saludable” indica que, una alimentación correcta constituye uno de los principales factores de promoción y mantenimiento de una buena salud durante toda la vida y que una dieta inadecuada es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades no transmisibles, como cardiovasculares, el cáncer, la Diabetes Mellitus y la obesidad que se asocian con una mayor ingesta de alimentos ricos en azúcares como los carbohidratos. (García et al. 2015, p.2; Zubizarreta )

**Tabla 9-3:** Pregunta N° 7. ¿Qué bebidas consume frecuentemente?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Gaseosa	35	25%
Agua mineral	37	27%
Jugos naturales	43	31%
Agua aromática	23	17%
<b>TOTAL</b>	<b>138</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 9-3:** Bebidas que consumen los trabajadores de las gasolineras

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

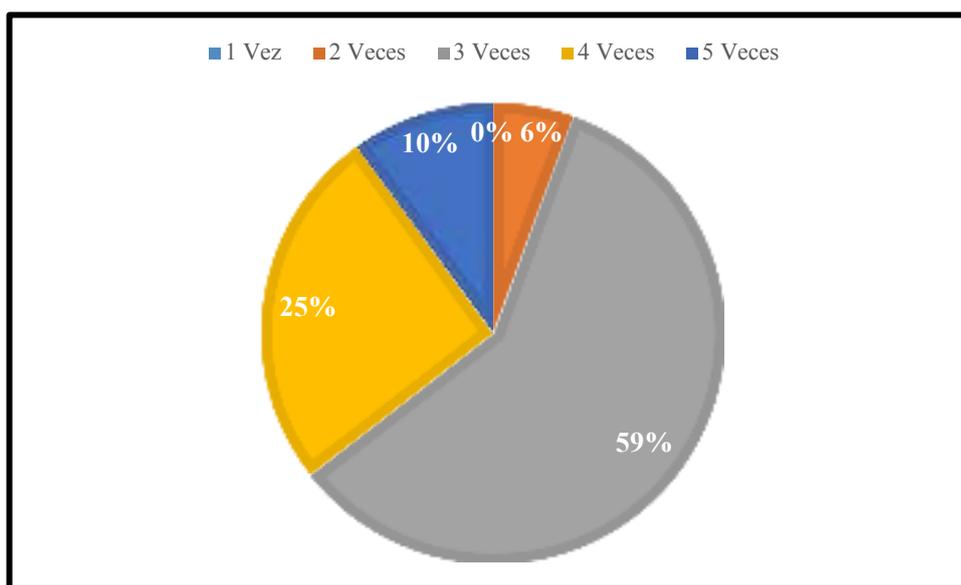
### Análisis:

En el gráfico 9-3 se puede evidenciar que en conjunto el 58% de la población encuestada ingiere con frecuencia jugos naturales y agua mineral, el 25% consume bebidas gaseosas que son sustancias con un elevado grado de azúcar lo que indica un alto índice glicémico; en un estudio realizado sobre “Las bebidas saludables y no saludables” se obtuvo que la población estudiada consume frecuentemente agua natural (60%), seguido de jugos naturales y como última opción bebidas gaseosas que se asocian directamente con el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles como: diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólico, hipertensión arterial, resistencia a la insulina, entre otros, estos resultados son similares y se asemejan a los obtenidos en la investigación desarrollada. (Terán, 2016, p. 8-10)

**Tabla 10-3:** Pregunta N° 8. ¿Durante el día cuantas veces ingiere alimentos?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
1	0	0%
2	5	6%
3	53	59%
4	23	25%
5	9	10%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 10-3:** Frecuencia de las veces de alimentación de los trabajadores

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

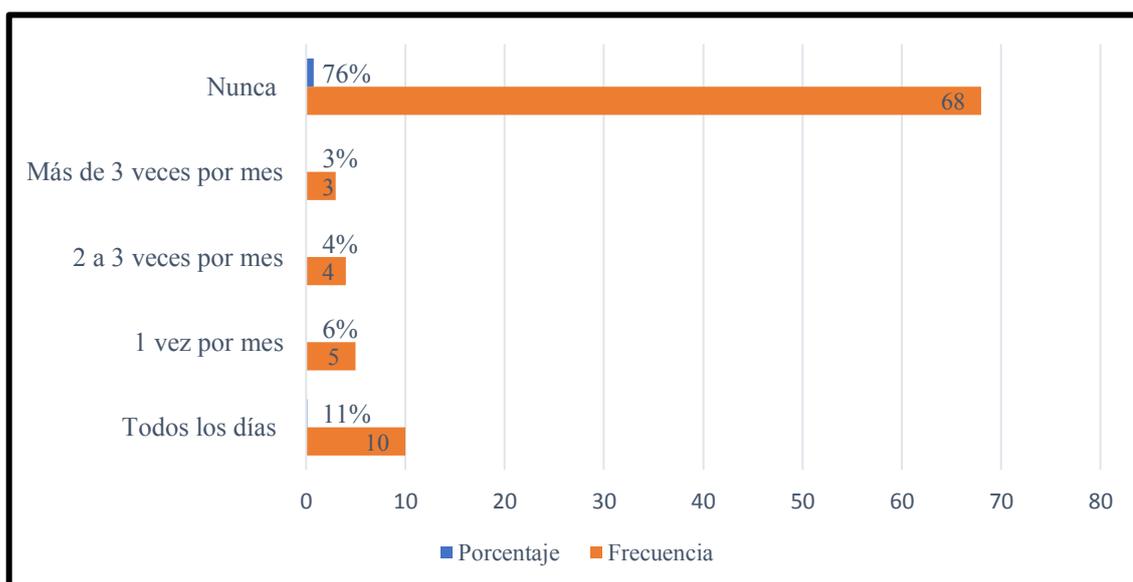
### Análisis:

Según el gráfico 10-3, el 59% de la población de estudio comen 3 veces al día, seguido del 25% que ingieren alimentos 4 veces al día, mientras que el 10% come 5 veces diarias; no se encontraron estudios similares al realizar la investigación bibliográfica pero se conoce que consumir grandes cantidades de alimentos variados y equilibrados, entre tres y cinco veces al día es beneficio para nuestro organismo porque un solo alimento no proporciona la energía y nutrientes que necesitamos para realizar nuestras actividades, por lo tanto los resultados obtenidos en la encuesta indican que la frecuencia de ingerir alimentos de 3 a 5 veces diarias en los trabajadores de las gasolineras es del 94%, además llevar una regularidad en la alimentación nos ayuda a mantenernos dentro de los límites de peso normal, evitando la aparición de enfermedades crónicas. (Lundsteen et al., 2014, p. 363)

**Tabla 11-3:** Pregunta N° 9. ¿Usted fuma?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Todos los días	10	11%
1 vez por mes	5	6%
2 a 3 veces por mes	4	4%
Más de 3 veces por mes	3	3%
Nunca	68	76%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 11-3:** Hábito de fumar de los trabajadores de las gasolineras

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

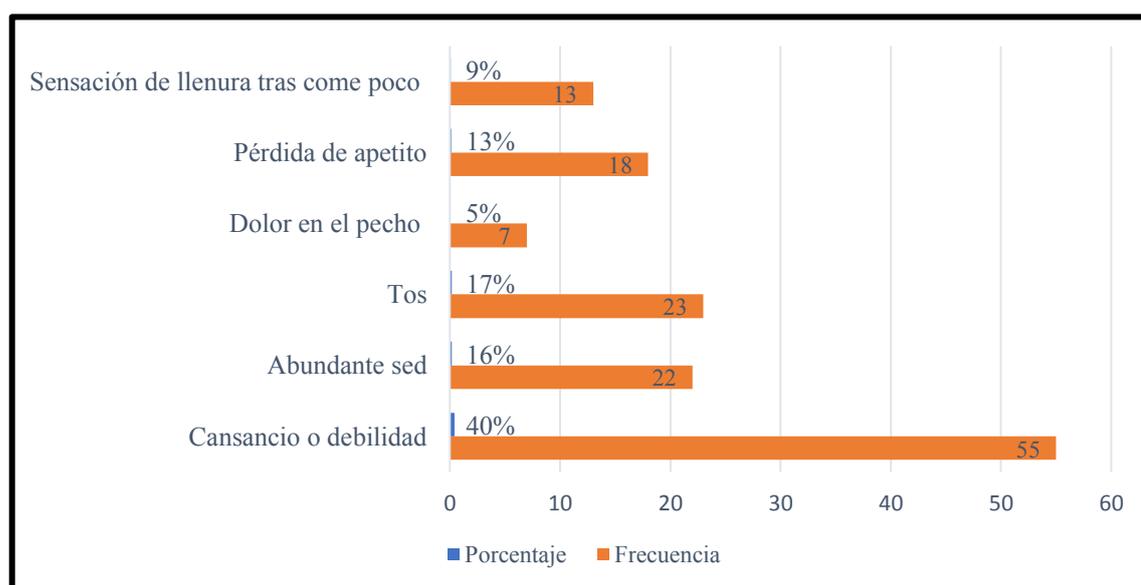
### Análisis:

En el gráfico 11-3 se puede observar que el 76% de las personas que forman parte del estudio no presentan el hábito de fumar, mientras que el 11% indican que fuman todos los días y el 6 % fuma una vez por mes; estos resultados se relacionan con el estudio realizado por Angamarca (2014, p.62), en un grupo de despachadores de la ciudad de Loja, donde se obtuvo resultados que muestra que el 91% no fuma contra el 9% que se señalan como fumadores habituales, según el estudio realizado el tabaquismo en aquellos que fuman de forma diaria se relaciona con el aumento a la predisposición de presentar enfermedades cardiovasculares.

**Tabla 12-3:** Pregunta N° 10. ¿Ha sentido alguna de las siguientes molestias en su salud?

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Cansancio o debilidad	55	40%
Abundante sed	22	16%
Tos	23	17%
Dolor en el pecho	7	5%
Pérdida de apetito	18	13%
Sensación de llenura tras comer poco	13	9%
<b>TOTAL</b>	<b>138</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 12-3:** Molestias de salud que presentan los trabajadores de las gasolineras

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

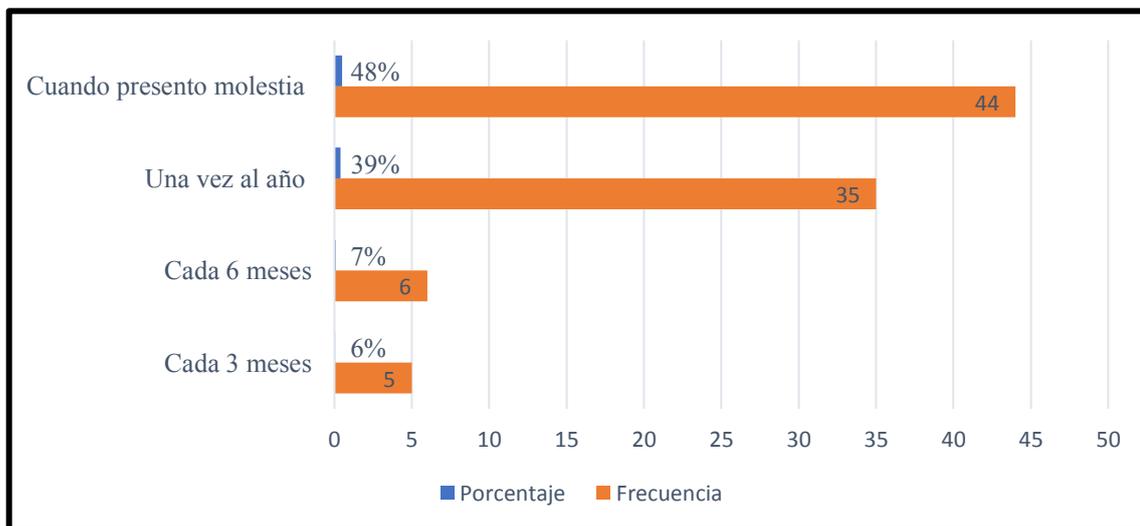
### Análisis:

En el gráfico 12-3 se muestra que el 40% de las personas encuestadas presentan cansancio físico o debilidad, debido a las actividades que conlleva realizar su trabajo, otras de las molestias que presentan son: tos con un 17% y dolor en el pecho con el 5%; estos resultados obtenidos se diferencian según los datos que encontró en su estudio Angamarca (2014, p. 65) porque los despachadores de las gasolineras de la ciudad de Loja, tuvieron tendencia a presentar con mayor frecuencia problemas respiratorios en especial tos con un 30% y debilidad física en un 27% debido al contacto directo con los gases del combustible, además, la inhalación de estos contaminantes volátiles puede causar síntomas como dolor en el pecho y abundante sed. (Mohammadyan et al., 2016; Sekhar y Subramaniyam, 2014, p. 28)

**Tabla 13-3:** Pregunta N° 11. Con que frecuencia se realiza un control médico

Alternativa	Frecuencia	Porcentaje
Cada 3 meses	5	6%
Cada 6 meses	6	7%
Una vez al año	35	39%
Cuando presento molestia	44	48%
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 13-3:** Frecuencia con que se realizan controles médicos los trabajadores

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

### Análisis:

En el gráfico 13-3 se evidencia que el 48% de la población acude al médico únicamente cuando presenta alguna molestia en su salud, el 39% una vez al año y el 7% se realiza controles cada 6 meses; durante la investigación bibliográfica no se encontraron estudios relaciones sobre el tema tratado, pero es importante, necesario y responsable visitar al médico por lo menos una vez por año para que el profesional realice una valoración del estado de salud y si es necesario la rápida recuperación de la patología, porque si cuidamos la salud podemos llevar un mejor estilo de vida, debido a que resulta más fácil curar la enfermedad en sus estadios iniciales, estos chequeos deben realizarse más aún cuando existen antecedentes familiares de enfermedades crónicas o si se presenta riesgos laborales con relación a las sustancias tóxicas en este caso es necesario los controles periódicos cada 6 meses por la gran exposición de los contaminantes tóxicos. (Estrado, Romero, 2017, p.383-835)

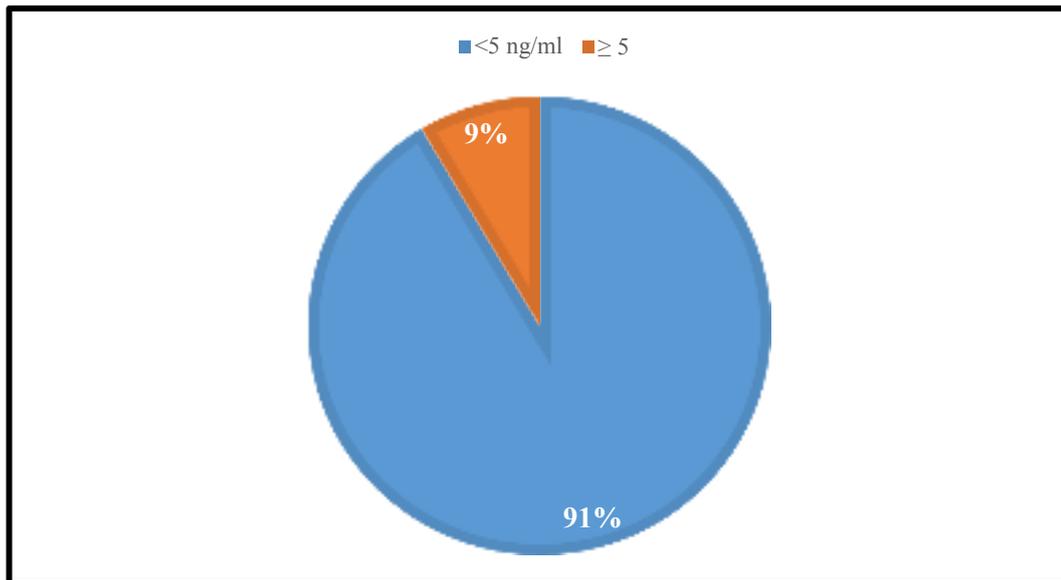
### 3.2. Resultado de los marcadores tumorales

#### 3.2.1. Resultados del Antígeno carcinoembrionario

**Tabla 14-3:** Resultado de los análisis del CEA en los trabajadores de las gasolineras.

Nivel de CEA	Frecuencia	Porcentaje
<5 ng/mL	75	91%
≥ 5	7	9%
<b>TOTAL</b>	<b>82</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2019



**Gráfico 14-3:** Resultado de los análisis de CEA en los trabajadores de las gasolineras

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

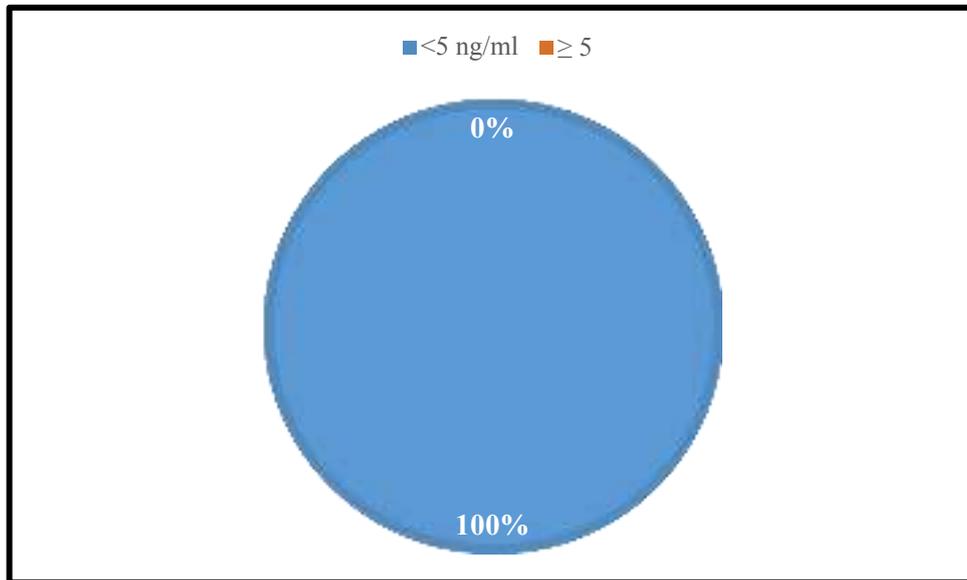
#### Análisis:

A través del análisis del marcador tumoral CEA, se estableció que el 91% de los trabajadores de las gasolineras presentaron valores inferiores a 5 ng/ mL, y el 9% presentó resultados superiores al rango de referencia; esto se debe por la exposición y la inhalación de vapores de benceno que están presentes en la gasolina, lo que promueve diversos y peligrosos problemas de salud para el personal que trabaja en las diferentes estaciones de servicio, este porcentaje elevado corresponde a los trabajadores que llevan laborando en las estaciones de servicio de 5 y más 10 años, las exposiciones a largo plazo de las sustancias tóxicas (benceno, tolueno y xileno) pueden dar lugar a efectos que incluyen hematotoxicidad, genotoxicidad, efectos inmunológicos y reproductivos así como el desarrollo de varios tipos de cáncer. (Maksoud et al., 2019, p.2)

**Tabla 15-3:** Resultado de los análisis del CEA del 10% de personas que no trabajan en contacto directo con la gasolina

Nivel de CEA	Frecuencia	Porcentaje
<5 ng/ml	8	100%
≥ 5	0	0%
<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 15-3:** Resultado de los análisis de CEA del 10% de personas

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

**Análisis:**

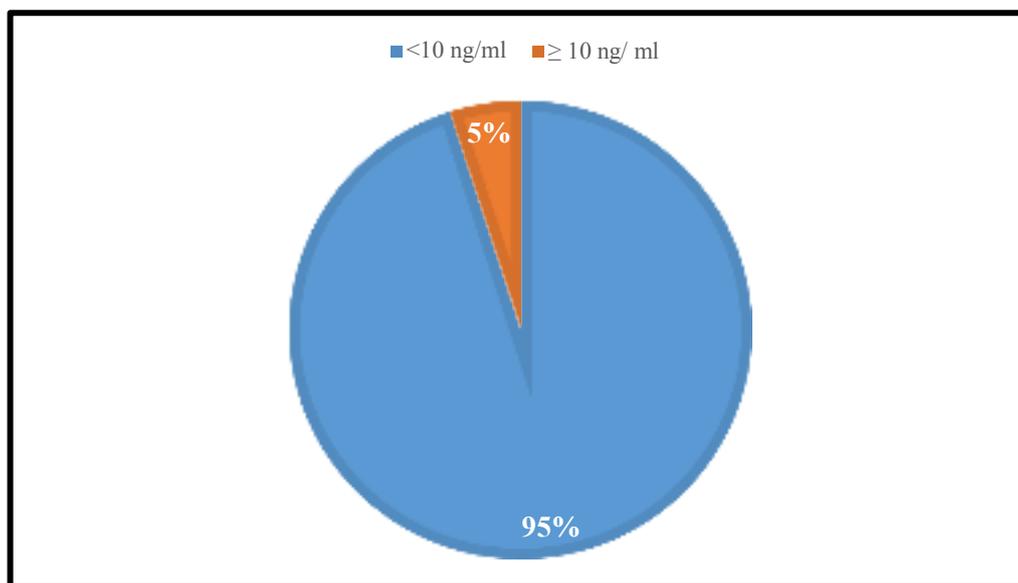
El 100% de las personas que no trabajan en contacto directo con la gasolina como son: los guardias de seguridad, el personal de limpieza y personal de Minimarket, presentaron resultados inferiores al valor de referencia para el CEA que es de 5 ng/ mL, debido a que no inhalan grandes concentraciones de los vapores del combustible que está formado por benceno, tolueno y xileno, motivo que los diferencia de los despachadores y administrativos de la estaciones de gasolina que son más susceptible a la toxicidad por su largas horas de exposición e inhalación de los hidrocarburos que desarrollan grandes patologías en la salud. (Maksoud et al., 2019, p.2)

### 3.2.2. Resultados del Alfa fetoproteína

**Tabla 16-3:** Resultado de los análisis del AFP en los trabajadores de las gasolineras.

Nivel de AFP	Frecuencia	Porcentaje
< 10 ng/mL	77	95%
≥ 10 ng/mL	4	5%
<b>TOTAL</b>	<b>81</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 16-3:** Resultado de los análisis de AFP de los trabajadores de las gasolineras

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

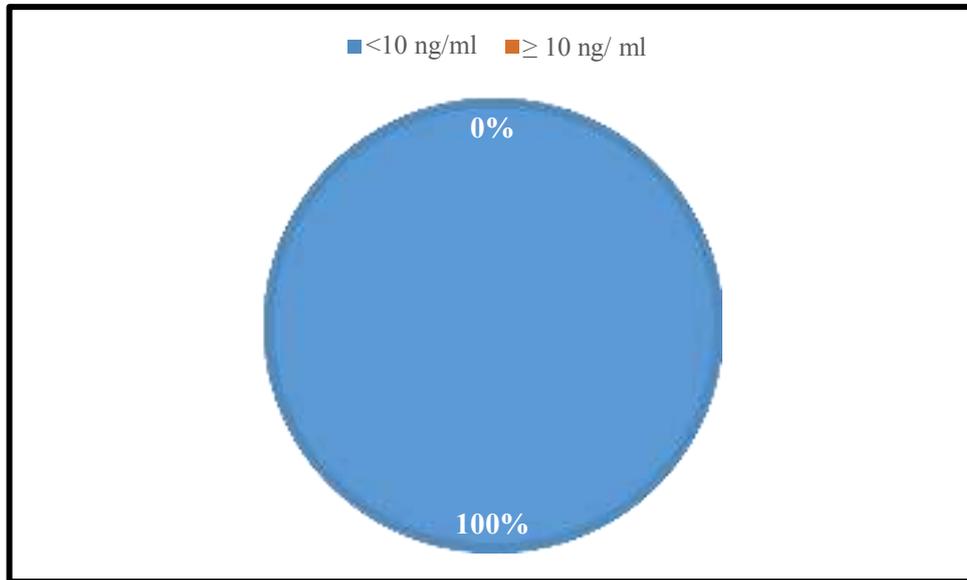
#### Análisis:

Los trabajadores de las gasolineras, en un 95% presentaron valores normales de AFP, mientras que el 5%, superó el valor de referencia establecido que es de 10 ng/mL, este porcentaje de la población de estudio se ha expuesto a los compuestos químicos de 5 a 10 años por el tiempo que llevan de trabajo, por lo tanto, se indica que a mayor tiempo de exposición mayor será la probabilidad de presentar alteraciones en la salud, estos valores elevados se debe principalmente al benceno, que es considerado como un hidrocarburo constituyente de la gasolina, que ha sido clasificado como carcinógeno de clase 1 y puede ser absorbido por humanos y animales a través de la piel, ingestión y como en este caso por la inhalación, hay que recalcar que los trabajadores que lleven más años de forma continua trabajando en sus puestos tendrán 155 veces más riesgo de muerte por leucemia si se expone a 10 ppm de benceno durante 40 años de período de trabajo acumulado. (Syimir et al. , 2018, p.21588)

**Tabla 17-3:** Resultado de los análisis del AFP en el 10% de personas que no trabajan en contacto directo con la gasolina

Nivel de AFP	Frecuencia	Porcentaje
< 10 ng/Ml	8	100%
≥ 10 ng/mL	0	0%
<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020



**Gráfico 17-3:** Resultado de los análisis de AFP del 10% de personas

Realizado por: Katherine Shagñay, 2020

### Análisis:

Los valores de AFP del total de las personas que no trabajan en contacto directo con la gasolina fueron inferiores a 10 ng/ mL, resultados que están dentro del valor de referencia. El límite permisible de exposición a corto plazo para el benceno no puede superar más de 5.0 ppm, en cambio para un trabajador que se encuentra expuesto a exposiciones largas no puede ser más de 1.0 ppm., porque este hidrocarburo es responsable de la aparición de problemas hematológico e inmunológicos que afectan potencialmente la salud de las personas desarrollando la aparición de diversos tipos de cáncer. (Syimir et al. , 2018, p.21589)

### 3.3. Análisis estadístico

**Tabla 18-3:** Test F para saber si las varianzas son iguales o desiguales con el Antígeno carcinoembrionario

<b>Prueba F para varianzas de dos poblaciones</b>		
	<b>Trabajadores de las gasolineras</b>	<b>Otros</b>
Media	2,3	2,6
Varianza	1,9	1,1
Observaciones	82	8
Grados de libertad	81	7
F	1,6	
P(F<=f) una cola	0,2	
Valor crítico para F (una cola)	3,2	

**Realizado por:** Katherine Shagñay, 2020

#### **Planteamiento de Hipótesis:**

**Ho:** Se asumen varianzas iguales entre los resultados de los trabajadores de las gasolineras y las personas que trabajan en otras áreas,  $p \geq 0,05$

**Hi:** No se asume varianzas iguales entre los resultados de los trabajadores de las gasolineras y las personas que trabajan en otras áreas,  $p < 0,05$

#### **Decisión:**

Mediante el Test F para determinar si las varianzas son iguales o desiguales cuyo  $p \geq 0,05$  no existe argumento para desechar la Ho, por lo tanto, se asumen varianzas iguales.

**Tabla 19-3:** Comparación de los resultados del Antígeno carcinoembrionario de los trabajadores de las gasolineras con el 10% de los trabajadores que no se relacionan de forma directa con los vapores de la gasolina.

<b>Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales</b>		
	<b>Trabajadores de las gasolineras</b>	<b>Otros</b>
Media	2,3	2,6
Varianza	1,9	1,1
Observaciones	82	8
Varianza agrupada	1,8	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	88	
Estadístico t	-0,5	
P(T<=t) una cola	0,2	
Valor crítico de t (una cola)	1,6	
P(T<=t) dos colas	0,5	
Valor crítico de t (dos colas)	1,9	

**Realizado por:** Katherine Shagñay, 2020

**Planteamiento de Hipótesis:**

**H<sub>0</sub>:** No existe diferencia significativa entre los resultados de los trabajadores de las gasolineras y las personas que trabajan en otras áreas,  $p \geq 0,05$

**H<sub>1</sub>:** Existe diferencia significativa entre los resultados de los trabajadores de las gasolineras y las personas que trabajan en otras áreas,  $p < 0,05$

**Decisión:**

Mediante la prueba t de Student para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en el resultado del marcador tumoral Antígeno carcinoembrionario, entre los trabajadores de las gasolineras y las personas que no se relacionan de forma directa con el combustible, como  $p \geq 0,05$  se desecha la hipótesis nula, por lo tanto, se determinó que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos, esto se debe a que la mayor parte de la población de estudio llevan trabajando en las estaciones de servicio entre 6 meses y 3 años, y para que se pueda observar las patologías que producen las sustancias tóxicas como el benceno, tolueno y xileno va a depender de la duración y el tiempo de la exposición a estos hidrocarburos a los cuales han sido sometidos los trabajadores de las gasolineras.

**Tabla 20-3:** Test F para saber si las varianzas son iguales o desiguales con el Alfa fetoproteína

<b>Prueba F para varianzas de dos muestras</b>		
	<b>Trabajadores de las gasolineras</b>	<b>Otros</b>
Media	2,9	1,4
Varianza	124,7	1,1
Observaciones	81	8
Grados de libertad	80	7
F	103,9	
P(F<=f) una cola	6,5E-07	
Valor crítico para F (una cola)	3,2	

**Realizado por:** Katherine Shagñay, 2020

**Planteamiento de Hipótesis:**

**H<sub>0</sub>:** Se asumen varianzas iguales entre los resultados de los trabajadores de las gasolineras y las personas que trabajan en otras áreas,  $p \geq 0,05$

**H<sub>1</sub>:** No se asume varianzas iguales entre los resultados de los trabajadores de las gasolineras y las personas que trabajan en otras áreas,  $p < 0,05$

**Decisión:**

Mediante el Test F para determinar si las varianzas son iguales o desiguales cuyo  $p \geq 0,05$  no existe argumento para desechar la  $H_0$ , por lo tanto, se asumen varianzas iguales.

**Tabla 21-3:** Comparación de los resultados del marcador tumoral Alfa fetoproteína de los trabajadores de las gasolineras con el 10% de los trabajadores que no se relacionan de forma directa con los vapores de la gasolina.

<b>Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales</b>		
	<b>Trabajadores de las gasolineras</b>	<b>Otros</b>
Media	2,9	1,4
Varianza	124,7	1,1
Observaciones	81	8
Varianza agrupada	114,8	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	87	
Estadístico t	0,3	
P( $T \leq t$ ) una cola	0,3	
Valor crítico de t (una cola)	1,6	
P( $T \leq t$ ) dos colas	0,7	
Valor crítico de t (dos colas)	1,9	

**Realizado por:** Katherine Shagñay, 2020

**Planteamiento de Hipótesis:**

**$H_0$ :** No existe diferencia significativa entre los trabajadores de las gasolineras y las personas que trabajan en otras áreas,  $p \geq 0,05$

**$H_1$ :** Existe diferencia significativa entre los trabajadores de las gasolineras y las personas que trabajan en otras áreas,  $p < 0,05$

**Decisión:**

Mediante la prueba t de Student para dos muestras por medio el test de Fisher suponiendo varianzas iguales, para el resultado del marcador tumoral Alfa fetoproteína, entre los trabajadores de las gasolineras y las personas que no se encuentran expuestos de forma directa con los hidrocarburos, como  $p \geq 0,05$  se desecha la hipótesis nula, por tanto, se determinó que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos, porque la mayor parte del personal que labora en las gasolineras lleva poco tiempo expuesto a estas sustancias tóxicas que son capaces de desarrollar diversos tipos de neoplasias en el organismo del individuo expuesto.

### 3.4. Elaboración del tríptico para la promoción de la salud

El jefe debe proporcionar los elementos de protección individual (EPI) adecuados para el trabajo:

**Guantes:** Deben ser de categoría III es decir de Nitrilo o alcohol de polivinilo, antes y después de la utilización de los guantes se lavarán y secarán las manos.

**Calzado de uso profesional:** Será resistente a combustibles derivados del petróleo por lo que deberá contar con propiedades antideslizantes.

**Protección respiratoria:** se suministrará protección individual respiratoria con filtro tipo AX contra gases y vapores orgánicos. (Braconi, 2017)



## CONCLUSIONES

- Los trabajadores de las gasolineras de la ciudad de Ambato en el estudio ejecutado realizan actividad física en su mayoría no presentan el hábito de fumar, evitan las bebidas gaseosas reemplazándolas por jugos naturales y agua mineral, acciones que en conjunto contribuyen a mantener un buen estado de salud, por otra parte, su alimentación se basa en el consumo de grandes cantidades de carbohidratos en especial arroz y pan, dejando de lado alimentos importantes como vegetales y frutas, además, prácticas que predispone a la población a presentar enfermedades crónicas no transmisibles como Diabetes y las enfermedades cardiovasculares.
- Se analizaron los sueros de los trabajadores de las gasolineras utilizando el método ELISA, en donde el 91% los resultados para el marcador tumoral Antígeno carcinoembrionario fue menor a 5 ng/mL y el 9% de la población presentó resultados superiores al valor de referencia, lo que significa que existe una alteración, que puede ser de origen neoplásico indicando la presencia de cáncer de colon, páncreas, mama, estómago y pulmón, o no neoplásico por pancreatitis e inflamación intestinal; el 95% de las personas presentó resultados normales del marcador tumoral Alfa fetoproteína y el 5% valores superiores a 10 ng/mL, indicando la presencia de cáncer de hígado, de pulmón, estómago, testículos y de ovario, o situaciones no tumorales como hepatitis, cirrosis o abscesos; estos resultados por sí solos no son verídicos se deben complementar con otras pruebas específicas.
- En el estudio realizado se comparó los resultados de los marcadores tumorales antígeno carcinoembrionario y Alfa fetoproteína de los trabajadores de las gasolineras con el 10% de personas que no trabajan en contacto directo con la gasolina ( guardias de seguridad, personal de limpieza y personal de Minimarket), como p resultado ser  $\geq$  a 0,05, se estableció que no existe una diferencia significativa entre los resultados, esto se relaciona a que la mayoría de los trabajadores de las gasolineras no han estado en contacto prolongado con los gases del combustible, debido a que el 30% han trabajado de 6 meses a 1 años y para que se desarrollen las patologías que generan estos compuestos se determina a través del tiempo y la cantidad de exposición.
- Se realizó una socialización a los trabajadores de las gasolineras sobre la promoción de salud, en la que se indicó, como deben llevar una alimentación variada para mantener un buen estado de salud, evitando de esta forma la aparición de enfermedades, además de complementar esta

rutina con ejercicio, controles médicos de forma periódica para detectar cualquier patología y el uso de equipos de protección debido al trabajo que realización.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda a los trabajadores de las gasolineras realizarse periódicamente análisis de los marcadores tumorales y otras pruebas complementarios para un mejor diagnóstico debido a que se encuentran expuestos por su trabajo al benceno, tolueno y xileno compuestos altamente tóxicos.
- Incentivar a la ejecución de más proyectos relacionados a los marcadores tumorales como método de prevención, especialmente en grupos vulnerables en donde la incidencia de cáncer es alta debido a la exposición ocupacional de los componentes químicos de los combustibles.
- Se recomienda ejecutar capacitaciones acerca de los daños oncogénicos que puede causar la exposición a los gases y componentes hidrocarbonados de la gasolina, para que la sociedad tome conciencia y se realice los exámenes a tiempo, disminuyendo de esta forma la probabilidad de aparición enfermedades cancerígenas.

## GLOSARIO

**Ataxia:** Anormalidades en la coordinación del movimiento por problemas neurológicos, caracterizado por errores en la velocidad, duración y tiempo de la actividad motora. (Flores et al., 2013)

**Biosíntesis:** Reacciones químicas que en conjunto permiten que el organismo elabore sustancias complejas como proteínas, grasas, carbohidratos. (Flores et al., 2013)

**Delección:** Mutación genética por el cual se pierde material genético a través de un par de nucleótidos de ADN. (Berriatua, 2012)

**Displasia:** Anomalía del desarrollo en un tejido normal o de un órgano. (Zubirratea et al., 2019)

**Hematopatía:** Procesos patológicos que afectan a la sangre. (Berriatua, 2012)

**Metástasis:** Diseminación de un tumor o masa cancerígena a otras partes del cuerpo distinto de su lugar de origen. (Zubirratea et al., 2019)

**Neoplasia:** Se desarrolla como una masa anormal de tejido que va creciendo de forma descontrolada esto a causa de la multiplicación de células que no mueren cuando deberían lo cual va formando una masa distinta en el tejido corporal. (Zubirratea et al., 2019)

## BIBLIOGRAFÍA

**AGENCIA PARA SUSTANCIAS TÓXICAS Y REGISTRO DE ENFERMEDADES.** [en línea], 2015. [Consulta: 21 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=466&tid=83>.

**ANGAMARCA CASTILLO, Emersson Homero.** “Alteraciones respiratorias a causa de inhalación de aire contaminado por gases de combustible en Despachadores de gasolineras de la ciudad de Loja” [en línea] (tesis). Universidad Nacional de Loja, Área de Salud Humana. Ecuador. 2014. [Consulta: 21 agosto 2019]. Disponible en: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10638/1/TESIS.pdf>

**AYDIN, S.** “A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/ protein analyse using ELISE. *Department of Medical Biochemistry.* [en línea], 2015, p. 1-15. [Consulta: 20 agosto 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25908411>

**BANNURA, G et al.,** “Antígeno carcinoembrionario preoperatorio como factor pronóstico independiente en cáncer de colon y recto”. *Revista Médica de Chile.* [en línea], 2015, (Chile), pp. 691-700. [Consulta: 10 septiembre 2019]. ISSN: 0034-9887. Disponible: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v132n6/art05.pdf>

**BAL DE KIER et al.,** *Biología tumoral claves celulares y moleculares de cáncer.* [en línea]. Argentina-Buenos Aires: Eudeba, 2008. [Consulta: 21 noviembre 2019]. Disponible en: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/espochsp/reader.action?docID=3186115&query=Bal+de+kier+>

**BERRIATUA J.** Diccionario Médico Completo. [en línea], 2012, (España), pp. 244-400. [Consulta: 29 noviembre 2019]. Disponible: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/espochsp/reader.action?docID=3216103&query=diccionario+de+c%C3%A1ncer>

**BORDA, A et al.,** “Valor pronóstico pretratamiento del antígeno carcinoembrionario en el cáncer colorrectal operado. Es útil en todos los estadios del tumor”. *Elsevier: Gastroenterología y Hepatología.* [en línea], 2015, (España), pp3-5. [Consulta: 28 noviembre 2019]. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0210570515001211>

**BIO-RAD LABORATORIES.INC**, Elisa Basic guide [en línea],2017, pp.14-15. [Consulta: 12 junio 2019]. Disponible en: <https://www.bio-rad-antibodies.com/static/2017/an-introduction-to-elisa/elisa-basics-guide.pdf>

**BRACCONI, G et al.**, “Evaluación de la exposición a benceno en trabajadores de diferentes áreas laborales”. *Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*. [en línea], 2017, (Colombia), pp. 363-372. [Consulta: 20 agosto 2019]. ISSN: 0120-5552. Disponible: <https://www.redalyc.org/pdf/817/81753881011.pdf>

**CALDERÓN, R.**, Inmunohistoquímica. (Tesis). [En línea]. Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de Biotecnología. (México).2007. pp. 54. [Consulta 01-07-19]. Disponible en: <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>

**CARRASCOSA SAEZ, Diana**. “Utilización de la Alfafetoproteína en procesos tumorales de diferente etiología y otras patologías hepáticas”. [en línea] (tesis). (Doctoral). Universidad Complutense de Madrid. 2002. [Consulta: 21 noviembre 2019]. Disponible en: [https://ebookcentral.proquest.com/lib/epochsp/reader.action?docID=3165232&query=Carrascosa+](https://ebookcentral.proquest.com/lib/epochsp/reader.action?docID=3165232&query=Carrascosa+sa+)

**CHAVEZ DÍAZ, Diego Patricio**. “Valoración del sistema inmune y hematológico en trabajadores expuestos a componentes de la gasolina en estaciones de servicio de combustible de la ciudad de Quito, 2016”. [en línea] Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Bioanálisis, Carrera de Bioquímica Clínica. Ecuador. 2016. pp.1-100. 20-23. [Consulta: 18 agosto 2019]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/12527/VALORACION%20DEL%20SISTEMA%20INMUNE%20Y%20HEMATOLOGICO%20EN%20TRABAJADORES%20EXPUESTOS%20A%20COMPONENTES%20DE%20LA%20GASOLINA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**DE LA GARZA, Jaime; & JUAREZ, Paula**. *El Cáncer*. [en línea]. Monterrey-México: Nuevo León, 2014. [Consulta: 5 diciembre 2019]. Disponible en: [http://eprints.uanl.mx/3465/1/El\\_Cancer.pdf](http://eprints.uanl.mx/3465/1/El_Cancer.pdf)

**ESPLUGUES, A et al.**, “Exposición a contaminantes atmosféricos durante el embarazo y desarrollo prenatal y neonatal: protocolo de investigación en el proyecto INMA (Infancia y Medio Ambiente)”. *Revista Española*. [en línea], 2007, (España), pp. 162-171. [Consulta: 18 agosto 2019]. ISSN: 0213-9111. Disponible: <http://scielo.isciii.es/pdf/gsv/v21n2/especial.pdf>

**FERNÁNDEZ, N.** “Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay”. [en línea], 2007. [Consulta: 18 agosto 2019]. Disponible: <http://www.higiene.edu.uy/parasito/trabajos/elisa.pdf>

**FLORES L et al.**, “Abordaje diagnóstico de la Ataxia Cerebelosa adquirida en el adulto mayor”. Secretaria de Salud de México. [en línea], 2013 (México), pp. 5. [Consulta: 28 noviembre 2019]. Disponible:[http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/IMSS\\_600\\_13\\_A\\_TAXIACEREBELOSA/600GER.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/IMSS_600_13_A_TAXIACEREBELOSA/600GER.pdf)

**GARAULET M.** “La cronobiología, la alimentación y la salud”. [en línea]. 2015, (España) (15). pp. 105-108. [Consulta: 10 agosto 2019]. ISSN: 1698-3726. Disponible: <https://dialnet.unirioja.es/document/385209703/27-726-pdf>

**GARCIA, A et al.**, “Alimentación Saludable”. *Instituto de nutrición e higiene de los alimentos.* (2015). (Cuba), pp. 1-13

**HERMIDA, I et al.**, “Marcadores Tumorales”. *Revista Clínica de Medicina Familiar.* [en línea], 2016, (España), pp. 31-42. [Consulta: 10 agosto 2019]. ISSN: 2386-8201. Disponible: <http://scielo.isciii.es/pdf/albacete/v9n1/especial.pdf>

**LAVIN DE JUAN, Laura.** “Marcadores tumorales: presente y futuro”. [en línea] (tesis). Universidad Complutense, Facultad de Farmacia. España. 2015. pp. 1-22. [Consulta: 21 agosto 2019]. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/LAURA%20LAVIN%20DE%20JUAN.pdf>

**LEÓN I.** “Método ELISA”. [en línea] (2019). [Consulta: 21 agosto 2019]. Disponible en: <http://www.enzolifesciences.com/>

**LUNDSTEEN, M.** *Reproducción social y Conflictos en las periferias urbanas del estado Español.* Tarragona-España: Universitat rovida. 2014. pp. 1-5747.

**NOVATEC.** Alfaa fetoproteína. Análisis ELISA para la determinación cuantitativa de Alfa fetoproteína en suero humano o plasma. (2017).

**MANEL, Juan; et al.** *Inmunoterapia frente al cáncer utilización del sistema inmunitario para combatir el cáncer.* Navarra-España: EUNSA, 2017, pp. 18-24

**MARTINEZ, María.** “Defectos congénitos de origen ambiental. Medidas preventivas”. [en

línea], 2003. [Consulta: 09 enero 2020]. Disponible en: [http://riberdis.cedd.net/bitstream/handle/11181/2963/Defectos\\_congenitos\\_de\\_origen\\_ambienta1.pdf;jsessionid=E26C8D7E8D38DF2F7FE522F106CE33F1?sequence=1](http://riberdis.cedd.net/bitstream/handle/11181/2963/Defectos_congenitos_de_origen_ambienta1.pdf;jsessionid=E26C8D7E8D38DF2F7FE522F106CE33F1?sequence=1)

**MAKSOU, A et al.**, “Biochemical study on occupational inhalation of benzene vapours in petrol station”. *Respiratory Medicine Case Reports*. [en línea], 2019, (Egipto), (27), p. 1-4. [Consulta: 20 noviembre 2019]. ISSN 2213-0071. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213007119300954>

**MALDONAD, M. PEREYRA, M. ZENTENO, E.** “Estructura y función de la Alfa fetoproteína”. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. vol. 58, n° 4 (2015). (México) pp. 5-13

**MOHAMMADYAN, et al.**, “Risk assessment of benzene among gas station refueling workers” *Ecotoxicology and Environmental Safety*. n° 25 (2016). pp. 3563–3569.

**MONOBID.** Antígeno Carcinoembrionario. Análisis ELISA para la determinación cuantitativa de Antígeno carcinoembrionario en suero humano o plasma. (2019).

**MORO A, et al.**, “Early hematological and immunological alterations in gasoline station attendants exposed to benzene”. *Elsiver*. [en línea], 2015, (Brazil), p. 347-353. [Consulta: 20 noviembre 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25601738>

**NIKULINA D et al.**, “Fifty Years of Discovery of Alpha-Fetoprotein as the First Tumor Marker”. *University of Kragujevac*. [en línea], 2015, (Russia), p. 101-105. [Consulta: 29 noviembre 2019]. Disponible en: <http://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/0370-8179/2015/0370-81791502100N.pdf>

**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA (MSP)**, 2016. *Bebidas Saludables* [en línea]. Ecuador, 2016 [Consulta: 04 noviembre 2019], p. 8. Disponible en: [https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com\\_docman&view=download&alias=628-preguntas-y-respuestas-sobre-alimentacion&category\\_slug=documentos-2016&Itemid=599](https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_docman&view=download&alias=628-preguntas-y-respuestas-sobre-alimentacion&category_slug=documentos-2016&Itemid=599)

**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA (MSP)**, 2013. *Somos Salud: Actividad Física* [en línea]. Ecuador, 2013 [Consulta: 04 noviembre 2019]. Disponible en: <http://instituciones.msp.gob.ec/somossalud/index.php/agita-tu-mundo/346-actividad-fisica>

**INSTITUTO NACIONAL DEL CÁNCER.** “El cáncer” [en línea]. Estado Unidos, 2015 [Consulta:04 septiembre 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>

**OCHOA, R.** “Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmuno epidemiológicos”. (2012). (Cuba), pp. 1-120.

**ORDÓÑEZ LEÓN, Laura Melissa.** “IDENTIFICACIÓN DE ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS POR EXPOSICIÓN A BENCENO, EN LOS DESPACHADORES DE DOS ESTACIONES DE SERVICIO DE GASOLINA EN QUITO, DURANTE EL PERÍODO ENERO – MAYO DE 2013.” [en línea] (tesis). (Maestría)Universidad Internacional Sek, Facultad de seguridad y Salud Ocupacional. Ecuador. 2013. [Consulta: 21 agosto 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/752/1/Tesis%20MSSO.pdf>

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** “Benceno”. [en línea], 2019, [Consulta: 28 noviembre 2019]. Disponible en: [https://www.who.int/ipcs/assessment/public\\_health/benzene/es/](https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/benzene/es/)

**OWEN, J. et al.,** Inmunología de Kuby 7 ma ed. México: McGRAW-HILL Interamericana Editores,2014

**RAMIREZ V.** “Cuantificación de compuestos aromáticos en las emisiones gaseosas de fuentes móviles terrestres de gasolina en el distrito metropolitano de Quito”. [en línea] (tesis). Universidad Central de Ecuador. 2012. [Consulta: 29 noviembre 2019]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/495/1/T-UCE-0017-14.pdf>

**ROA I, MARUANE M.** “Desarrollo del Aparato Digestivo”. *Scielo*, [en línea], (2012), (Chile). pp.1289. [Consulta: 29 noviembre 2019]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v30n4/art06.pdf>

**RODRÍGUEZ, T. MUÑIZ, D.** “Presencia de enfermedades crónicas no trasmisibles en trabajadores de la salud: un enfoque multidisciplinario”. *Revista Finlay*. [en línea], 2014, 4(3) p. 1-14 [Consulta: 20 noviembre 2019]. Disponible en: <http://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/279>

**ROMO, J.** *Actualizaciones en Estudios de Inmunología y Genética*. [en línea], 2da Edición. Málaga: España, ICB, SL: 2012. [Consulta: 28 noviembre 2019]. Disponible en:

<https://ebookcentral.proquest.com/lib/espochsp/reader.action?docID=5757738&query=inmunol og%C3%ADa>

**RUBIO F et al.**, Técnicas de inmunodiagnóstico. Madrid: Paraninfo, 2016.

**SALVIDIA F et al.**, “Valor predictivo del CA15-3 como marcador tumoral en cáncer de mama”. *Revista venezolana de Oncología*. [en línea], (2012), (Venezuela). pp.4. [Consulta: 28 noviembre 2019]. ISSN: 0798-0582. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3756/375635120005.pdf>

**SCHEEPERS P et al.**, “Assessment of exposure of gas station attendants in Sri Lanka to benzene toluene and xylenes”. *Elsevier*. [en línea], 2019, p. 3-5 [Consulta: 20 noviembre 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31472361>

**SEKHAR, P. SUBRAMANIYAM, K.** “Detection of harmful benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes (BTEX) Vapors using electrochemical gas sensors “. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (2014). pp. 231-234

**SILVA Y et al.**, “Malformaciones congénitas relacionadas con los agentes teratógenos”. *Revista Cubana*. [en línea], 2018, (Cuba), pp. 652-665. [Consulta: 19 agosto 2019]. ISSN: 1560-4381. Disponible: <http://scielo.sld.cu/pdf/ccm/v22n4/ccm11418.pdf>

**SUÁREZ GONZÁLES, Inmaculada.** “Metodología ELISA para estudiar la estabilidad de medicamentos Biotecnológicos”. [en línea] (tesis). (Doctorado) Universidad de Granada, Facultad de Ciencias. España. 2017. pp. 6-561. [Consulta:18 agosto 2019]. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/26634533.pdf>

**SYIMIR, F et al.**, “Benzene exposure among tanker worker during unloading of petrol”. *ScienceDirect*. [en línea], 2018, p. 21547–21550. [Consulta: 20 noviembre 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214785318318017>

**TERAN Sofía.** “Patrón de consumo de bebidas saludables y no saludables en adultos jóvenes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador en el periodo 2015-2016” [en línea] Universidad Católica del Ecuador. 2016. [Consulta: 12 noviembre 2019]. Disponible en: <https://docplayer.es/58903632-Patron-de-consumo-de-bebidas-saludables-y-no-saludables-en-adultos-jovenes-de-la-pontificia-universidad-catolica-del-ecuador-en-el-periodo.pdf>

**ZUBIZARRETA A et al.**, “Revisión de la literatura sobre efectos nocivos de la exposición laboral a hidrocarburos en trabajadores en ambiente externo”. *Medicina y Seguridad del trabajo*. [en línea], 2018, p. 273–275. [Consulta: 26 noviembre 2019]. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/mesetra/v64n252/0465-546X-mesetra-64-252-00271.pdf>





## 12. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- En cumplimiento con el Artículo 1, Párrafo 2b de la Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo sobre el uso de dispositivos médicos para diagnóstico in vitro, es responsabilidad del fabricante asegurar la idoneidad, desempeño y seguridad del producto. Por lo tanto, el procedimiento de prueba, la información, precauciones y advertencias contenidas en las instrucciones de uso deben ser seguidas estrictamente. El uso de los kits con analizadores y equipos similares debe ser validado. No está autorizado realizar ningún cambio en el diseño, composición y procedimiento del ensayo, así como ningún uso en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario es responsable de tales cambios. El fabricante no se hace responsable por resultados falsos o por cualquier incidente causado por esta razón. El fabricante no se responsabiliza por los resultados obtenidos mediante el análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Sólo para uso en diagnóstico in vitro y por personal experto. No es para uso interno o externo en humanos o animales.
- Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio (GPI) en el manejo de las muestras sanguíneas y sus derivados.
- Todos los componentes de origen humano utilizados para la producción de estos reactivos han sido examinados para determinar la presencia de anticuerpos anti-VIH, anticuerpos anti-HCV y anticuerpos anti-HBsAg y se ha determinado que no son reactivos. Sin embargo, todo el material debe ser considerado y tratado como potencialmente infeccioso.
- No intercambiar reactivos o frascos de diferentes lotes de producción.
- No se deben utilizar reactivos de otros fabricantes en combinación con los reactivos de este kit.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Use sólo puntas para micropipeta, dispensadores y material de laboratorio limpio.
- No intercambie las tapas de los viales. Esto evita la contaminación cruzada.
- Cierre los viales de los reactivos con fuerza inmediatamente después de usarlos para evitar la evaporación y contaminación microbiana.
- Después de abrir el kit por primera vez y almacenado, verifique que los viales del conjugado y los estándares no presenten contaminación microbiana antes de continuar usándolo.
- Para prevenir la contaminación cruzada y la obtención de resultados falsamente elevados, pipeteo las muestras de los pacientes y dispense el conjugado con precisión hacia el fondo de los pozos evitando que se produzcan salpicaduras.
- Tenga en cuenta las directrices para llevar a cabo el control de calidad en los laboratorios clínicos por los controles de ensayo y / o sueros.
- Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo se mantenga constante para obtener resultados reproducibles. El pipeteo de las muestras no debe extender más allá de diez minutos para evitar la deriva del análisis. Si son más de 10 minutos se necesitan seguir el mismo orden de dispensación. Si se utilizó más de una placa, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta en cada placa.
- La eliminación de líquidos incompleta o inexacta de los pozos podría influir en la precisión del ensayo y / o aumentar el fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en los sistemas automatizados de ELISA, se recomienda aumentar el número de lavados.
- Muestras con contaminación microbiana no debe ser utilizado en el ensayo. Muestras muy lipémicas o hemolizadas no deberían también ser utilizado.
- Lectores de placas miden verticalmente. No tocar el fondo de los pozos.
- Algunos reactivos contienen pequeñas cantidades de Procin 300 ® como conservante. Evite el contacto con la piel o mucosa.
- El sustrato de TMB contiene un irritante, que puede ser nocivo si es inhalado, ingerido o absorbido por la piel. Para prevenir lesiones, evite la inhalación, ingestión o contacto con la piel y los ojos.
- La solución de parada se compone de una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo y puede ser tóxico si se ingiere. Para evitar quemaduras, evitar contacto con la piel y los ojos.
- Para valores superiores, por ejemplo en el embarazo, diluir la muestra y, considerando el factor de dilución para el cálculo del resultado.
- Además de la solución de sustrato TMB inicia una reacción cinética, que es terminada por la adición de la parada Solución. Por lo tanto, el sustrato TMB y la solución de parada debe ser añadido en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.

### 12.1. Consideraciones para El Descarte

Los residuos de productos y preparaciones químicas generalmente son considerados como residuos peligrosos. La eliminación de este tipo de residuos está regulada por leyes y regulaciones nacionales y regionales. Póngase en contacto con las autoridades locales o empresas de manejo de residuos para que lo asesoren sobre cómo eliminar los residuos peligrosos.

## 13. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

Prod. No.: DNOV033 AFP (96 Determinations)

**ANEXO B: Ficha técnica para el análisis ELISA de Alfa fetoproteína**



**Monobind Inc.**  
Lake Forest, CA 92650, USA

**AccuBind**  
ELISA Microwells

**Carcinoembryonic Antigen (CEA) Test System**  
Product Code: 1825-000

Microbiology, the color reaction is visible in approximately 15 minutes at 37°C.

### 3.0 PRINCIPLE

**Immunoenzymometric (TYPE B)**  
The enzyme reagent coated on all microwells reacts specifically with antibody enzyme conjugates and antibodies with enzyme and diluted antigen, in excess, and when antigen is in excess, the reaction after processing the assay in the microwell is through the inhibition of enzyme coated on the well and enzyme conjugate with monoclonal anti-CEA antibody.

Using a microtiter 96-well microplate, the enzyme labeled antibody and a color substrate, the color change results from the enzyme activity and the antibody enzyme conjugate of each substrate in the same microwell complex. The reaction is stopped by the following equation:

$$E_2 + A + E_1 + A \rightarrow E_2 + A + E_1 + A$$

$E_2$  = Enzyme labeled antibody (Excess Quantity)  
 $A$  = Antigen (Excess Quantity)  
 $E_1$  = Enzyme labeled antibody (Excess Quantity)  
 $A$  = Antigen (Excess Quantity)  
 $E_2 + A + E_1 + A \rightarrow E_2 + A + E_1 + A$

$E_2$  = Enzyme labeled antibody (Excess Quantity)  
 $A$  = Antigen (Excess Quantity)  
 $E_1 + A \rightarrow E_1 + A$

$E_2$  = Enzyme labeled antibody (Excess Quantity)  
 $A$  = Antigen (Excess Quantity)

**3.1 INTRODUCTION**  
 Intended Use: The Quantitative Determination of Carcinoembryonic Antigen (CEA) Concentration in Human Serum by a Microtiter Enzymometric Assay.

### 3.2 SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Carcinoembryonic antigen (CEA) is a glycoprotein with a molecular weight of 53,000. CEA is a marker for colorectal cancer, pancreatic cancer, and other types of cancer. CEA is the most widely used marker for colorectal cancer.

Through CEA is a protein molecule with a molecular weight of 53,000. CEA is a marker for colorectal cancer, pancreatic cancer, and other types of cancer. CEA is the most widely used marker for colorectal cancer.

Through CEA is a protein molecule with a molecular weight of 53,000. CEA is a marker for colorectal cancer, pancreatic cancer, and other types of cancer. CEA is the most widely used marker for colorectal cancer.

Through CEA is a protein molecule with a molecular weight of 53,000. CEA is a marker for colorectal cancer, pancreatic cancer, and other types of cancer. CEA is the most widely used marker for colorectal cancer.

1. Enzyme B - Enzyme - Anti-CEA<sup>1</sup>  
 One (1) bottle containing 4.5 mg/ml enzyme (1:4) in buffer. Store at 2-8°C.

2. Stop Solution - Enzyme - Anti-CEA<sup>2</sup>  
 One (1) bottle containing 4.5 mg/ml (1:4) in buffer. Store at 2-8°C.

3. Product Instructions

Note 1: Do not use reagents beyond their expiration date.  
 Note 2: Always use reagents at room temperature (20-25°C). Opened reagents are stable for a long time when stored at 2-8°C and maintained stability as indicated on the label.

Note 3: Follow suggestions for a single 96-well microplate.

**4.1 Required Equipment**

1. Pipette capable of delivering 20, 50, and 500 µl volumes with a precision of 1% or better.
2. Dispenser for accurate delivery of 0.1 ml of 0.1 M sodium acetate buffer, pH 4.5.
3. Microplate Reader (e.g., 96-well microplate reader).
4. Microplate Reader with 450 nm and 650 nm wavelength absorbance capability.
5. Microplate Reader with 450 nm and 650 nm wavelength absorbance capability.
6. Plate washer (optional) for final wash step.
7. Assay support system for final step.
8. Tissue.
9. Daily control reagents.

**5. PRECAUTIONS**

**5.1 Risk of Infection**  
 Risk for Infection or Other Health Hazard or Injury

All products in this kit are sterile and have been found to be free of bacteria. Handle all reagents as if they were infectious. Avoid contact with eyes and mucous membranes. Do not use reagents if they are contaminated. Do not use reagents if they are expired. Do not use reagents if they are damaged. Do not use reagents if they are not at room temperature. Do not use reagents if they are not at room temperature. Do not use reagents if they are not at room temperature.

**6.0 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**

The specimen that is used for this test is the serum. The specimen should be collected in a clean, dry, and leak-proof container. The specimen should be collected in a clean, dry, and leak-proof container. The specimen should be collected in a clean, dry, and leak-proof container. The specimen should be collected in a clean, dry, and leak-proof container.

**7.0 QUALITY CONTROL**

Each lot of the reagents should include a lot-to-lot comparison. Each lot should include a lot-to-lot comparison. Each lot should include a lot-to-lot comparison. Each lot should include a lot-to-lot comparison.

**8.0 REAGENT PREPARATION**

1. Wash Buffer  
 Dilute contents of wash buffer to 1000 ml with distilled water. Store at room temperature for 30 days at 2-8°C.
2. Working Enzyme Solution  
 Pour the contents of the enzyme into a 100 ml bottle. Store at room temperature for 30 days at 2-8°C.

Note 1: Do not use the working solution if it has been stored for more than 30 days at room temperature.

**9.0 TEST PROCEDURE**

Before proceeding with the assay, first of all, pipette 200 µl of sample into each well of the microtiter plate (200 µl).

\*The procedure should be performed by trained personnel or trained professionals.

1. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
2. Pipette 200 µl of each of the reagents into each well of the microtiter plate.
3. Add 200 µl of 0.1 M sodium acetate buffer, pH 4.5, to each well of the microtiter plate.
4. Seal the microtiter plate with a microplate sealer.
5. Read the contents of the microtiter plate at 450 nm and 650 nm.
6. Calculate the CEA concentration in the sample.
7. Report the results of the assay.

**10.0 QUALITY CONTROL**

1. Pipette 200 µl of each of the reagents into each well of the microtiter plate.
2. Pipette 200 µl of each of the reagents into each well of the microtiter plate.
3. Pipette 200 µl of each of the reagents into each well of the microtiter plate.

**11.0 CALCULATION OF RESULTS**

A colorimetric assay is used to determine the concentration of Carcinoembryonic Antigen (CEA) in human serum.

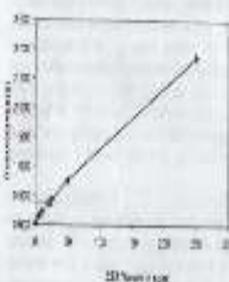
1. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
2. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
3. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
4. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
5. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
6. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
7. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
8. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
9. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
10. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
11. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
12. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
13. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
14. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
15. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
16. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
17. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
18. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
19. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
20. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
21. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
22. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
23. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
24. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
25. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
26. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
27. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
28. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
29. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
30. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
31. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
32. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
33. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
34. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
35. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
36. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
37. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
38. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
39. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
40. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
41. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
42. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
43. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
44. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
45. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
46. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
47. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
48. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
49. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
50. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
51. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
52. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
53. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
54. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
55. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
56. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
57. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
58. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
59. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
60. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
61. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
62. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
63. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
64. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
65. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
66. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
67. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
68. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
69. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
70. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
71. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
72. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
73. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
74. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
75. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
76. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
77. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
78. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
79. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
80. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
81. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
82. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
83. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
84. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
85. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
86. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
87. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
88. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
89. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
90. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
91. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
92. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
93. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
94. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
95. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
96. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
97. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
98. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
99. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.
100. Pipette the reagents into each well of the microtiter plate.

Note: This is a colorimetric assay. The color reaction is visible in approximately 15 minutes at 37°C.

**EXAMPLE**

Cell number	Relative frequency	Cell width	Mid-point	Frequency
G1a	4	0.01	0.005	1
	3	0.01		
G1b	2	0.01	0.01	5
	0	0.01		
G2	21	0.21	0.01	10
	21	0.21		
G3	21	0.42	0.42	25
	11	0.44		
G4	45	0.75	0.75	15
	15	0.25		
G5	21	0.35	0.80	10
	21	0.35		
Total	21	0.35	1.00	100
	21	0.35		

Figure 1



The data presented in Table 1 and Figure 1 is for illustration only and should not be used as a basis for data analysis or interpretation.

### 11.00 C. PARAMETERS

- In order for the assay results to be considered valid the following criteria must be met:
  - The relative CD45 count is > 10%
  - Flow cytometry quality parameters must be within the established range.

### 12.00 PER ANALYSIS

The ALLC has the following flow cytometry analysis program that allows for:

- Mean Population
- Representative flow cytometry histogram showing population characteristics
- Applying of various flow cytometry gates to ALLC population (see user manual)
- Highly sensitive forward scatter (FSC) and side scatter (SSC) analysis
- Flow cytometry plots to assist in a comprehensive interpretation of assay results
- The ability to generate data files in a format which is compatible with the software used for data analysis and storage by the facility using the assay
- Flow cytometry results can be stored in a format which is compatible with the software used for data analysis and storage by the facility using the assay

- Flow cytometry analysis results are typically reported as percentages of the total cell population.
- For comparison, the mean of the population of cells for different assays.
- Relative population with CD45 expression above 10% is reported (for example 10% of cells with CD45 > 10% are reported). The relative population is obtained by multiplying the cell count by the relative frequency.
- For the purpose of this assay, the mean of the population of cells for different assays is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.
- A population of cells, relative to the total cell population, is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.
- The relative population of the population of cells with CD45 > 10% are reported.
- For the purpose of this assay, the mean of the population of cells for different assays is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.

### 12.00 CHARACTERISTICS

- Mean population and interpretation of results must be performed by a qualified technician.
- Population of cells with CD45 expression above 10% is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.
- For the purpose of this assay, the mean of the population of cells for different assays is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.
- For the purpose of this assay, the mean of the population of cells for different assays is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.
- For the purpose of this assay, the mean of the population of cells for different assays is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.
- For the purpose of this assay, the mean of the population of cells for different assays is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.

### 13.00 EXPECTED RANGE OF VALUES

Mean 30% of the population with CD45 expression above 10% is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.

**TABLE 1**  
Expected values for the CD45 assay

Parameter	Units	Expected Value
Mean	%	30%

The expected values for the establishment of assay of relative population of cells with CD45 expression above 10% is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.

### 14.00 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Precision
- The ability to detect low levels of CD45 expression above 10% is reported. For example, for the population of cells with CD45 > 10% are reported.

**TABLE 2**  
Within Assay Precision (Relative Error)

Sample	%	CV	CV
Level 1	20	1.0	5%
Level 2	20	1.0	5%
Level 3	20	1.0	5%

**TABLE 3**  
Between Assay Precision (Relative Error)

Sample	%	CV	CV
Level 1	10	0.41	0.5%
Level 2	10	0.41	0.5%
Level 3	10	0.41	0.5%

**14.00 Linearity**  
The CD45 Assay is linear over the range of 0 to 100%. The assay is linear over the range of 0 to 100%. The assay is linear over the range of 0 to 100%.

**14.00 Accuracy**  
The CD45 Assay is accurate over the range of 0 to 100%. The assay is accurate over the range of 0 to 100%. The assay is accurate over the range of 0 to 100%.

**TABLE 4**  
Linearity of CD45 Assay

Method	Mean	Standard Deviation	Correlation Coefficient
CD45	50%	1.0	0.99
Reference	50%	1.0	0.99

**14.00 Specificity**  
The CD45 Assay is specific over the range of 0 to 100%. The assay is specific over the range of 0 to 100%. The assay is specific over the range of 0 to 100%.

**TABLE 5**  
Stability of CD45 Assay

Substrate	Concentration
Acetylcholine	100%
Acetylcholine	100%
Acetylcholine	100%
ATP	100%

**14.00 Linearity of CD45 Assay**  
The CD45 Assay is linear over the range of 0 to 100%. The assay is linear over the range of 0 to 100%. The assay is linear over the range of 0 to 100%.

### 15.00 REFERENCES

1. Smith, J. (1995). *Journal of Clinical Investigation*, 105, 123-130.
2. Johnson, R. (1998). *Journal of Clinical Investigation*, 110, 123-130.
3. Brown, S. (2000). *Journal of Clinical Investigation*, 115, 123-130.
4. White, T. (2002). *Journal of Clinical Investigation*, 120, 123-130.
5. Green, M. (2005). *Journal of Clinical Investigation*, 125, 123-130.
6. Black, K. (2008). *Journal of Clinical Investigation*, 130, 123-130.

7. Smith, J. (1995). *Journal of Clinical Investigation*, 105, 123-130.
8. Johnson, R. (1998). *Journal of Clinical Investigation*, 110, 123-130.
9. Brown, S. (2000). *Journal of Clinical Investigation*, 115, 123-130.
10. White, T. (2002). *Journal of Clinical Investigation*, 120, 123-130.
11. Green, M. (2005). *Journal of Clinical Investigation*, 125, 123-130.
12. Black, K. (2008). *Journal of Clinical Investigation*, 130, 123-130.

Table 1: Expected values for the CD45 assay

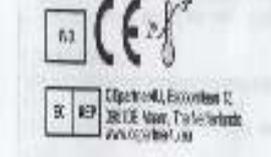
Parameter	Units	Expected Value
Mean	%	30%
Standard Deviation	%	1.0
Correlation Coefficient		0.99

For Order and Inquiries, please contact:

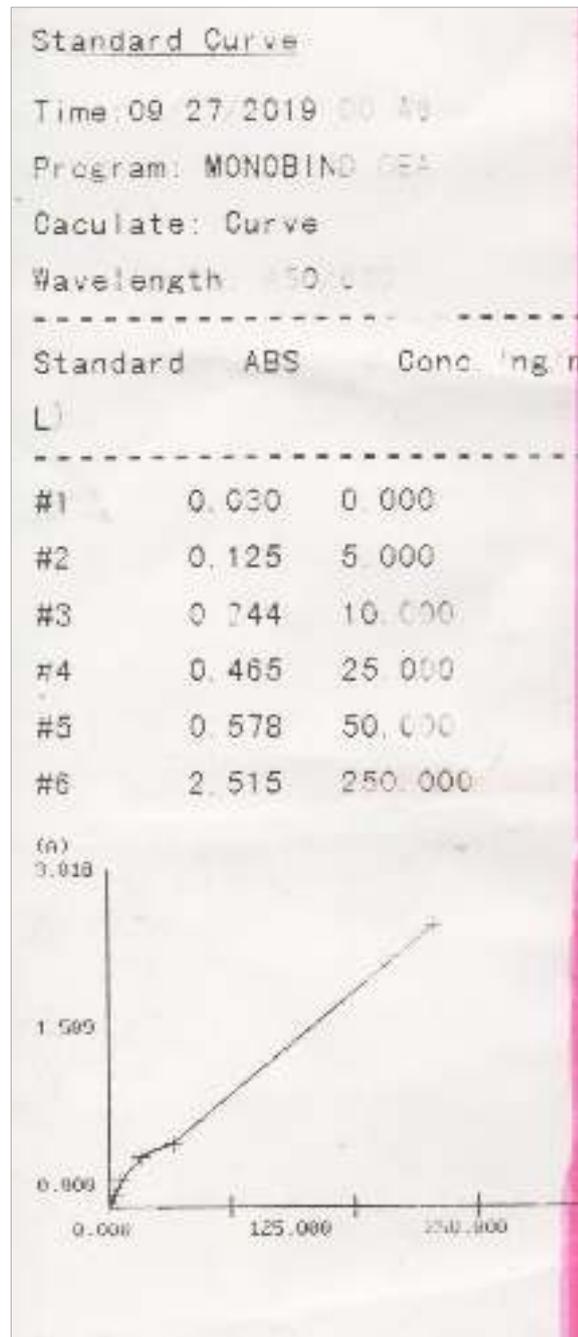
**Meridian Bioscience**  
100 North Pointe Drive  
Columbus, OH 43240-1099

Tel: (614) 891-2800 Fax: (614) 891-2801  
Web: [www.meridianbio.com](http://www.meridianbio.com)

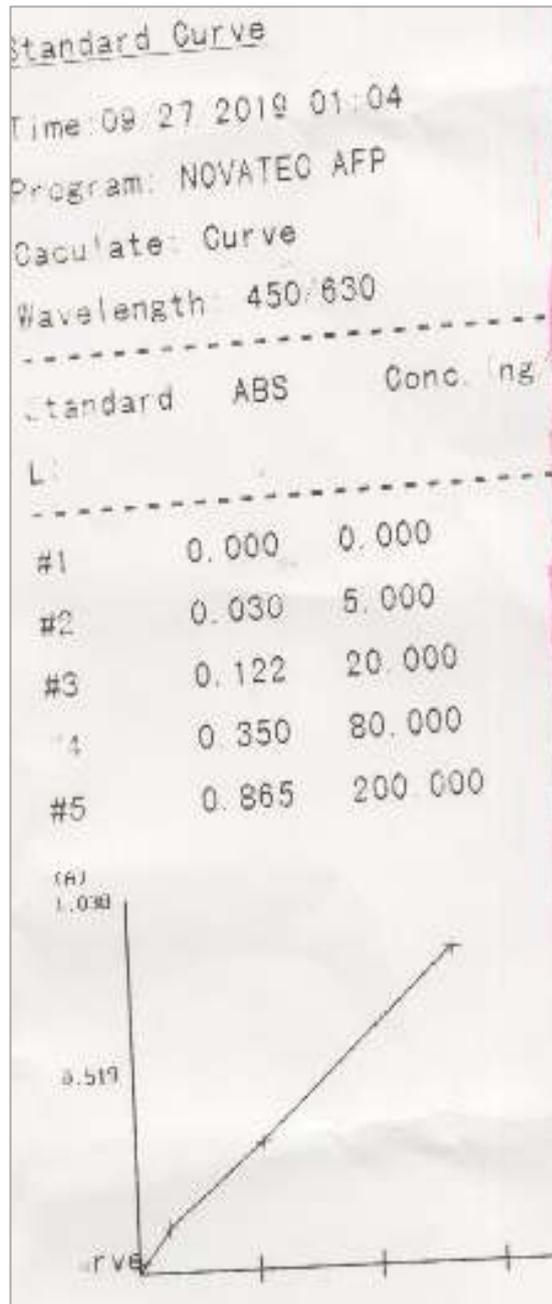
Please visit our website to learn more about our other laboratory products and services.



**ANEXO C:** Curva de calibración del Antígeno carcinoembrionario del Equipo Lector de placas ELISA GEAR (Linear)



**ANEXO D:** Curva de calibración de Alfa fetoproteína del Equipo Lector de placas ELISA GEAR  
(Linear)





ANEXO F: Resultados de la determinación del marcador tumoral Alfa fetoproteína

	1	2	3	4	5	6
A	0	+	-	-	+	-
B	S1	+	-	-	+	-
C	S2	+	-	-	+	+
D	S3	-	+	-	-	+
E	S4	-	-	-	+	-
F	S5	+	+	-	+	-
G	+	-	+	-	+	-
H	+	+	+	-	+	+
	0,000	2,761	0,295	0,000	2,269	0,000
	0,000	0,948	0,281	0,000	2,612	0,000
	5,000	2,403	0,608	0,000	1,370	3,716
	20,000	0,403	1,883	0,000	0,610	2,050
	80,000	0,957	0,000	0,000	1,743	0,883
	200,000	1,483	1,549	0,000	1,346	0,587
	10,030	0,750	2,763	0,000	1,393	0,105
	1,501	1,255	1,675	0,000	9,362	1,587

7-12 > Exit

	7	8	9	10	11	12
A	+	+	+	+	-	+
B	+	+	+	-	-	-
C	+	+	-	-	+	+
D	+	-	+	-	+	-
E	+	+	+	-	-	-
F	+	+	-	-	+	+
G	+	-	-	+	-	-
H	+	+	-	+	-	+
	4,115	2,047	3,300	2,513	0,345	3,069
	10,544	2,606	2,465	0,848	0,335	0,671
	1,439	2,562	0,401	0,447	2,246	1,538
	10,617	0,251	1,436	0,819	4,086	100,177
	1,335	2,663	2,079	0,863	0,609	0,185
	1,530	11,351	0,000	0,550	2,563	1,537
	2,709	0,914	0,607	1,454	0,781	0,774
	2,054	1,111	0,552	1,611	0,212	4,610

<< 1-6 Exit

## ANEXO G: Oficio de autorización dirigido a los Gerentes de las gasolineras



## ANEXO H: Socialización, entrega y recepción de encuestas al grupo de estudio formado por los trabajadores de las gasolineras



**ANEXO I: Encuesta realizada**

<b>BIOQUIMICA Y FARMACIA</b> <small>(Trabajamos con la máxima calidad)</small> <b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</b> <b>FACULTAD DE CIENCIAS</b>																
<p><b>Objetivo:</b> Conocer el estado de salud de las personas que trabajan en las gasólinas</p>																
<p><b>Instrucciones:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lea las preguntas detenidamente y marque con una x en la respuesta que elija.</li> <li>• Responda cada una de las interrogantes con mucha sinceridad</li> </ul>																
<p><b>Edad:</b> <input type="text" value="33"/></p>																
<p><b>Sexo:</b>      Masculino: <input type="checkbox"/>      Femenino: <input checked="" type="checkbox"/></p>																
<p><b>1. Escoja el cargo que usted desempeña en esta empresa</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 80%;">Administrativo</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Personal de gestión</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Personal de Limpieza</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Otros</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>			Administrativo	<input checked="" type="checkbox"/>	Personal de gestión	<input type="checkbox"/>	Personal de Limpieza	<input type="checkbox"/>	Otros	<input type="checkbox"/>						
Administrativo	<input checked="" type="checkbox"/>															
Personal de gestión	<input type="checkbox"/>															
Personal de Limpieza	<input type="checkbox"/>															
Otros	<input type="checkbox"/>															
<p><b>2. ¿Qué tiempo lleva trabajando en esta empresa?</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 80%;">6 meses – 1 año</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>1 - 2 años</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>3 - 5 años</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>5 - 10 años</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Más de 10 años</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> </table>			6 meses – 1 año	<input type="checkbox"/>	1 - 2 años	<input type="checkbox"/>	3 - 5 años	<input type="checkbox"/>	5 - 10 años	<input type="checkbox"/>	Más de 10 años	<input checked="" type="checkbox"/>				
6 meses – 1 año	<input type="checkbox"/>															
1 - 2 años	<input type="checkbox"/>															
3 - 5 años	<input type="checkbox"/>															
5 - 10 años	<input type="checkbox"/>															
Más de 10 años	<input checked="" type="checkbox"/>															
<p><b>3. ¿Conoce usted acerca de de las enfermedades crónicas como Diabetes Mellitus, Hipertensión arterial, insuficiencia renal?</b></p> <p>Si <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p>																
<p><b>4. ¿Realiza usted actividad física?</b></p> <p>Si <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p>																
<p><b>5. ¿Desayuna usted diariamente a la misma hora?</b></p> <p>Si <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p>																
<p><b>6. ¿Que tipo de alimentos consumen frecuentemente?</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 80%;">Pan</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Arróz</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Legumbres</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Frutas</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Caramelos</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Carnes</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> </table>			Pan	<input type="checkbox"/>	Arróz	<input type="checkbox"/>	Legumbres	<input checked="" type="checkbox"/>	Frutas	<input type="checkbox"/>	Caramelos	<input type="checkbox"/>	Carnes	<input checked="" type="checkbox"/>		
Pan	<input type="checkbox"/>															
Arróz	<input type="checkbox"/>															
Legumbres	<input checked="" type="checkbox"/>															
Frutas	<input type="checkbox"/>															
Caramelos	<input type="checkbox"/>															
Carnes	<input checked="" type="checkbox"/>															
<p><b>7. ¿Qué bebidas consume frecuentemente?</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 80%;">Café</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Agu mineral</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Jugos naturales</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Agu aromático/medicinal</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> </table>			Café	<input type="checkbox"/>	Agu mineral	<input type="checkbox"/>	Jugos naturales	<input type="checkbox"/>	Agu aromático/medicinal	<input checked="" type="checkbox"/>						
Café	<input type="checkbox"/>															
Agu mineral	<input type="checkbox"/>															
Jugos naturales	<input type="checkbox"/>															
Agu aromático/medicinal	<input checked="" type="checkbox"/>															
<p><b>8. ¿Durante el día cuántas veces ingiere alimentos?</b></p> <p>1 <input type="checkbox"/></p> <p>2 <input type="checkbox"/></p> <p>3 <input type="checkbox"/></p> <p>4 <input type="checkbox"/></p> <p>5 <input type="checkbox"/></p>																
<p><b>9. ¿Usted fuma?</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 80%;">Todos los días</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>1 vez por max.</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>2 u 3 veces por mes</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Más de 3 veces por max.</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Nunca</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> </table>			Todos los días	<input type="checkbox"/>	1 vez por max.	<input type="checkbox"/>	2 u 3 veces por mes	<input type="checkbox"/>	Más de 3 veces por max.	<input type="checkbox"/>	Nunca	<input checked="" type="checkbox"/>				
Todos los días	<input type="checkbox"/>															
1 vez por max.	<input type="checkbox"/>															
2 u 3 veces por mes	<input type="checkbox"/>															
Más de 3 veces por max.	<input type="checkbox"/>															
Nunca	<input checked="" type="checkbox"/>															
<p><b>10. ¿Ha sentido alguna de las siguientes molestias en su salud?</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 80%;">Cansancio o debilidad</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Abundante sud</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Tos</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Dolor en el pecho</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Pérdida de apetito</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Sensación de llenura tras comer poco</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Otras</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>			Cansancio o debilidad	<input type="checkbox"/>	Abundante sud	<input type="checkbox"/>	Tos	<input checked="" type="checkbox"/>	Dolor en el pecho	<input type="checkbox"/>	Pérdida de apetito	<input type="checkbox"/>	Sensación de llenura tras comer poco	<input type="checkbox"/>	Otras	<input type="checkbox"/>
Cansancio o debilidad	<input type="checkbox"/>															
Abundante sud	<input type="checkbox"/>															
Tos	<input checked="" type="checkbox"/>															
Dolor en el pecho	<input type="checkbox"/>															
Pérdida de apetito	<input type="checkbox"/>															
Sensación de llenura tras comer poco	<input type="checkbox"/>															
Otras	<input type="checkbox"/>															
<p><b>11. Con qué frecuencia se realiza un control médico</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 80%;">Cada 3 meses</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Cada 6 meses</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Una vez al año</td> <td style="text-align: center;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Cuando presente molestia</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>			Cada 3 meses	<input type="checkbox"/>	Cada 6 meses	<input type="checkbox"/>	Una vez al año	<input checked="" type="checkbox"/>	Cuando presente molestia	<input type="checkbox"/>						
Cada 3 meses	<input type="checkbox"/>															
Cada 6 meses	<input type="checkbox"/>															
Una vez al año	<input checked="" type="checkbox"/>															
Cuando presente molestia	<input type="checkbox"/>															
<p>¡Gracias por su colaboración!</p>																

**ANEXO J:** Extracción de muestras a los trabajadores de las diferentes gasolineras



**ANEXO K:** Charla sobre la prevención de enfermedades y entrega de trípticos al personal de las gasolineras

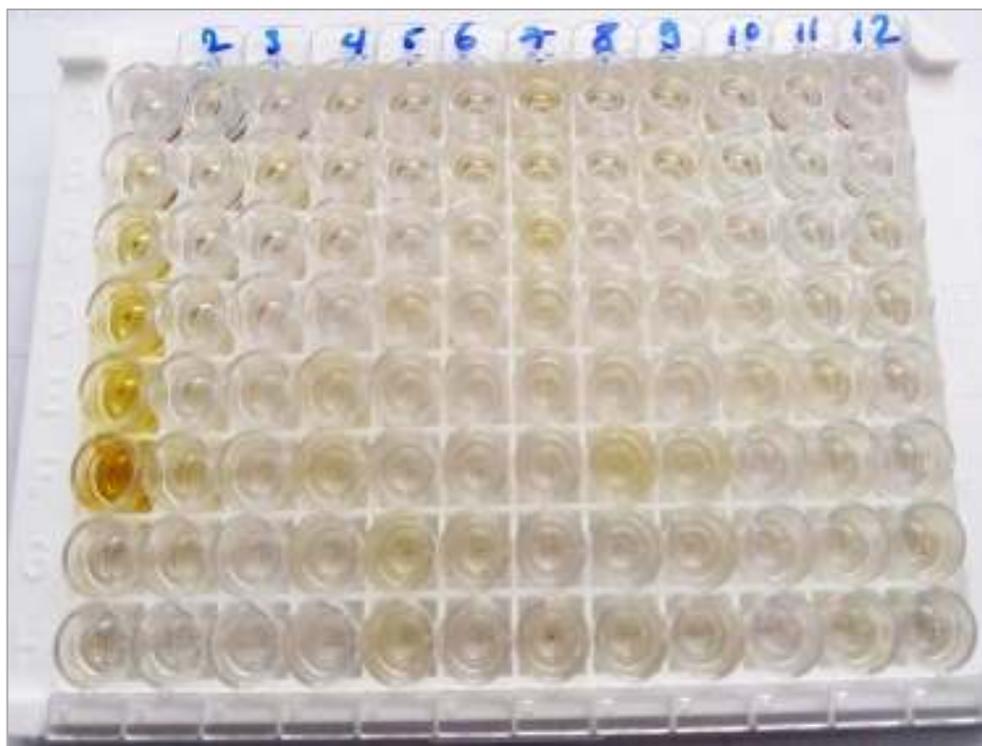
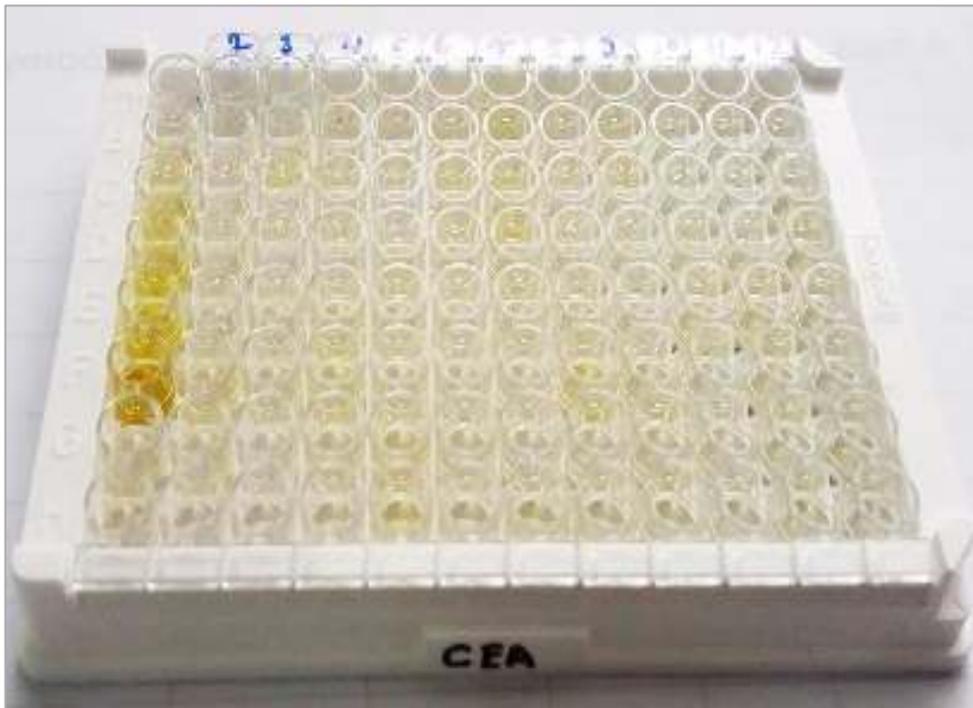


**ANEXO L: Procesamientos de las muestras en el Laboratorio de Análisis Clínicos**





**ANEXO M:** Resultados observados en la microplaca del Antígeno carcinoembrionario



ANEXO N: Resultados observados en la microplaca del Alfafetoproteína

